

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin
und dem
Department of Anesthesia and Critical Care des Massachusetts General Hospital

**Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der
neuromuskulären Übertragung
durch
Enkapsulierung mit Calabadion**

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von
Friederike Haerter
aus Hagen

2016

Dekan: Herr Univ.- Prof. Dr. med. J. Buer

1. Gutachter: Herr Priv.- Doz. Dr. med. M. Eikermann

2. Gutachter: Herr Priv.- Doz. Dr. med. U. Frey

3. Gutachter: Herr Univ.- Prof. Dr. med. M. Adamzik, Bochum

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Dezember 2016

Die nachfolgende Arbeit beruht auf folgenden Publikationen:

Haerter, F.; Simons, J.C.P.; Foerster, U.; Duaerte, I.M.; Diaz-Gil, D.; Ganapati, S.; Eikermann-Haerter, K.; Ayata, C.; Zhang, B.; Blobner, M.; Isaacs, L.; Eikermann, M.: *Comparative Effectiveness of Calabadiol and Sugammadex to Reverse Non-depolarizing Neuromuscular-blocking Agents*, (Anesthesiology 2015)

Haerter, F. und Eikermann, M.: *Reversing neuromuscular blockade: inhibitors of the acetylcholinesterase versus the encapsulating agents sugammadex and calabadiol*, (Expert opinion on pharmacotherapy 2016)

Haerter, F. und Eikermann, M.: Response Letter to „Effectiveness vs. Efficacy of Calabadiol and Sugammadex for Non-Depolarizing Neuromuscular Blocking Agent Reversal“, Lim, G., M.D., Landsittel, D.P., PhD, (Anesthesiology. 2016 Jun;124(6):1417-8.)

Der experimentelle Teil dieser Arbeit wurde in der Zeitschrift Anesthesiology publiziert und setzt sich aus drei Versuchsserien zusammen: in vitro, ex vivo und in vivo Experimente.

Der in vitro-Anteil erfolgte durch das Team um Ph.D. Lyle Isaacs, in Maryland. Die ex vivo Experimente wurden durch das Team um Prof. Dr. med. Manfred Blobner in München (Klinikum Rechts der Isar) durchgeführt.

Principal Investigator der in vivo Versuche war Dr. Matthias Eikermann. Friederike Haerter hat die in vivo Experimente unter Anleitung von Dr. Matthias Eikermann selbständig durchgeführt. Auf dem Boden der von Frau Friederike Haerter erhobenen in vivo Ergebnisse hat Frau Haerter auch die von den Kooperationspartnern von Dr. Eikermann an den Universitäten in München und Maryland erhobenen Daten in ihre Arbeit wissenschaftlich integriert.

Die zum Thema publizierte Übersichtsarbeit wurde selbständig von Friederike Haerter unter Anleitung von Matthias Eikermann verfasst.

Der Response Letter wurde ebenfalls selbständig von Friederike Haerter unter Anleitung von Matthias Eikermann verfasst.

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	8
1. Geschichte der neuromuskulären Blockade	8
2. Einsatz nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung	9
3. Gründe für die Reversierung der Effekte nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung	10
4. Methoden zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden	14
4.1. Historische Entwicklung der Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung	15
4.2. Pharmakologische Mechanismen der Reversierung neuromuskulärer Blockaden	16
4.2.1. Acetylcholinesterase-Inhibitoren	18
4.2.1.1. Neostigmin	19
4.2.1.2. Pyridostigmin und Edrophonium	21
4.2.2. Wirkstoffe zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung	22
4.2.2.1. Sugammadex	24
4.2.2.2. Calabadienderivate	27
4.2.3. Cystein-Reversierung	30
5. Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung bei Patienten mit Organversagen	32
5.1. Nierenversagen	32
5.2. Leberversagen	33
6. Zielsetzung	34
II. Methoden	36
1. In vitro-Experiment	36
2. Ex vivo-Experimente	39
3. In vivo-Experimente	41
3.1. Instrumentierung	41
3.1.1. Tracheale Kanülierung	42
3.1.2. Gefäß -Kanülierung	43
3.1.3. Urinproben	45
3.1.4. Bestimmung der neuromuskulären Übertragung	46
3.1.5. Medikamente	46
3.2. Experimentelles Protokoll	47
3.2.1. Protokoll zur Reversierung einer einfachen neuromuskulären Blockade	47
3.2.2. Protokoll zur Möglichkeit einer Re-Relaxierung nach abgeschlossener Reversierung	48
3.3. Datenanalyse	49
3.4. Statistische Analysen	49
3.5. Toxikologie	52
III. Ergebnisse	53
1. Ergebnisse der in Vitro-Experimente	53
2. Ergebnisse der ex Vivo-Experimente	54
3. Ergebnisse der in Vivo-Experimente	54
3.1. Reversierung steroidal nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung	54
3.1.1. Reversierung von Vecuronium	54
3.1.2. Reversierung von Rocuronium	56

3.2. Reversierung von Benzylisoquinolinen	57
3.3. Effekte von Succinylcholin nach vorheriger Reversierung einer Vecuronium-induzierten neuromuskulären Blockade	58
3.4. Nebenwirkungen	59
3.5. Toxikologie	60
3.6. Urinausscheidung von Calabadiol 2	61
IV. Diskussion	62
V. Zusammenfassung.....	69
Literaturverzeichnis	70
Abkürzungsverzeichnis.....	83
Abbildungen.....	84
Tabellen	84
Danksagung.....	85
Lebenslauf.....	86

I. Einleitung

1. Geschichte der neuromuskulären Blockade

Die Durchführung einer trachealen Intubation war vor der Einführung von Curare nicht üblich. Eine Muskelrelaxierung wurde durch die tiefe Inhalation von Allgemein-Anästhetika ermöglicht und war mit dem Risiko einer Einschränkung der Atmung oder der Herzfunktion behaftet (Raghavendra 2002).

Curare wurde erstmals von südamerikanischen Indianern zur Jagd eingesetzt und durch spanische Konquistadoren in Europa eingeführt. Erste Erwähnungen von Curare finden sich in Aufzeichnungen aus dem beginnenden 16-ten Jahrhundert. Auf Grund von Kriegen zwischen England, Spanien und Portugal verzögerte sich die ausführliche Erforschung von Curare um etwa 300 Jahre, bis Edward Bancroft einige Proben aus Südamerika importierte. Sir Benjamin Brodie nutzte diese Proben, um an Tieren zu demonstrieren, dass nach einer Curare-Injektion das Überleben durch mechanische Beatmung ermöglicht werden kann. 1846 zeigte Claude Bernard an Fröschen, dass eine Curare-Injektion in der Hüfte zu einer Muskelparese führt (Raghavendra 2002). Diese Experimente bildeten die Grundlage für den ersten klinischen Einsatz von Curare durch Arthur Laewen im Jahr 1912. Auf Grund der geringen Verfügbarkeit von Curare stagnierte der klinische Fortschritt.

Erst Richard C. Gill, welcher an einer Multiplen Sklerose erkrankt war und unter starken Muskelkrämpfen litt, unternahm 1938 eine Expedition in den ecuadorianischen Dschungel von der er 12 kg Curare mitbrachte. Er erhoffte sich eine Therapiemöglichkeit für seine Muskelkrämpfe.

Mit Hilfe des zusätzlichen Materials konnten Griffith & Johnson 1942 Curare in die Anästhesie-Praxis einführen und damit einen wesentlichen Beitrag zur Steigerung von Effektivität und Sicherheit der Allgemein-Anästhesie leisten (Nedergaard 2003). Die Definition einer Allgemein-Anästhesie wurde daraufhin erweitert und umfasst seither die Kombination aus Hypnose, Analgesie und Muskelrelaxierung (Utting 1992).

Trotz seiner enormen Vorteile in der Anästhesie, ist der Einsatz von Curare auch mit Risiken assoziiert. Curare besitzt eine sehr lange Wirkdauer. Ein Überhang, welcher die Hypnose überschreitet, ist nicht unüblich. Dieses Risiko wird seit der Einführung

synthetischer Formen neuromuskulärer Blocker stetig verringert. Im klinischen Alltag werden derzeit überwiegend mittel-lang wirksame nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung eingesetzt.

2. Einsatz nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung

Nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung führen zu einer dosisabhängigen Parese der Skelettmuskulatur und werden jährlich bei ca. 500 Millionen Patienten verabreicht (intercontinental Marketing Services (IMS) Health, Multinational Integrated Data Analysis System (MIDAS), September 2010). 30-60 % der auf einer Intensivstation behandelten Patienten (Rhoney & Murry 2003; Mascia et al. 2000; Brueckmann et al. 2015; Murphy et al. 2015) und 66.8 % der Patienten, welche sich einer elektiven OP unterziehen, erhalten nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung, um eine endotracheale Intubation oder die mechanische Beatmung zu erleichtern und/oder, um die Operationsbedingungen zu verbessern (Zhang et al. 2009).

Nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung gehen mit einer signifikanten Verbesserung der Qualität der trachealen Intubation einher. Zugleich wird die Inzidenz intubationsverknüpfter laryngealer Komplikationen, wie beispielsweise postoperativer Heiserkeit und Stimmbandschädigung, reduziert (Mencke et al. 2003).

Muskelrelaxantien können auch das Auftreten respiratorischer Komplikationen nach Notfall-Intubationen positiv beeinflussen. Eine Beobachtungsstudie konnte zeigen, dass zur Notfall-Intubation verabreichte Muskelrelaxantien nicht nur eine Verbesserung der Intubationsbedingungen erzeugen, sondern auch die Prävalenz von Hypoxie und eingriffsbezogenen Komplikationen reduzieren (Wilcox et al. 2012).

Zudem können nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung in schweren Fällen des akuten Atemnotsyndroms des Erwachsenen (Acute respiratory distress syndrom, ARDS) das therapeutische Ergebnis verbessern. Dieser Effekt war am größten, wenn eine schwerwiegende Asynchronie zwischen der Atmung und der mechanischen Ventilatoraktivität bestand.

Die zu starke Aktivierung der Atemmuskulatur kann durch Gabe von Muskelrelaxantien passager unterbrochen werden. Hierdurch werden die mit Druckschwankungen einhergehenden Risiken reduziert und eine „protektive“ mechanische Beatmung mit positivem Atemwegsdruck ermöglicht (Steingrub et al. 2014).

3. Gründe für die Reversierung der Effekte nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung

Insbesondere bei der Verabreichung hoher Dosierungen nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung besteht die Gefahr des Auftretens einer „cannot intubate cannot ventilate“ Situation.

Eine solche zeichnet sich dadurch aus, dass dem behandelnden Kliniker keine suffiziente Maskenbeatmung gelingt und auch die tracheale Intubation nicht möglich ist. Eine Not-Tracheotomie geht zumindest mit dem Risiko schwerwiegender Komplikationen bei ungewissem Ausgang einher. Zur Vermeidung zusätzlicher Risiken muss die Spontanatmung des Patienten so schnell wie möglich wiederhergestellt werden.

Durch die Reversierung einer kompletten neuromuskulären Blockade mit Calabadiol und Sugammadex kann die Atemmuskulatur innerhalb einer Minute wieder aktiviert und eine Spontanatmung ermöglicht werden. Dieses Vorgehen reduziert nicht nur die Hypoxiezeit des Patienten, sondern kann auch dessen Leben retten oder ihn vor schwerwiegenden Komplikationen bewahren.

Calabadiol birgt diesbezüglich potentiell einen weiteren Vorteil, indem es auch die respiratorischen Effekte einiger Anästhetika antagonisiert (Zhang et al. 2009; Gil-Diaz et al. 2016).

Des Weiteren ist der Einsatz von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung mit dem Risiko einer residuellen neuromuskulären Blockade verbunden. Hierbei handelt es sich um eine Rest-Parese am Ende einer Operation, wenn bereits eine vollständige Erholung der neuromuskulären Funktion gewünscht wird (Wilson et al. 2012; Eikermann, Vogt et al. 2007; Murphy & Brull 2010).

Eine residuelle neuromuskuläre Blockade hat verschiedene unerwünschte respiratorische Effekte:

Es kann zu einer Beeinträchtigung der forcierten Vitalkapazität kommen. Begin et al. zeigten, dass diese bei Patienten mit Muskeldystrophie mit der Kraft der respiratorischen Muskulatur korreliert (Begin et al. 1997). In einer weiteren Studie an gesunden Freiwilligen konnten die Auswirkungen einer Muskelrelaxierung durch Verabreichung von D-Tubocurarin auf den Hustenakt untersucht werden. Es zeigte sich, dass eine Schwächung der respiratorischen Muskulatur im Wesentlichen zu einer Verringerung der durch Husten

induzierten dynamischen Kompression und linearen Geschwindigkeit des Luftstroms durch die großen intrathorakalen Atemwege führt.

Des Weiteren wurde eine Zunahme der Atemwegsobstruktionen beobachtet (Arora & Gal 1981). Erst ab Erreichen einer TOF-Ratio (train of four ratio) von 0,9 kann mit hoher Wahrscheinlichkeit eine durch neuromuskuläre Parese verursachte obere Atemwegsobstruktion ausgeschlossen werden (Eikermann et al. 2006).

Durch Störung der pharyngealen Funktion (Eriksson et al. 1997) erhöht die residuelle Blockade zusätzlich das Aspirationsrisiko (Sundman et al. 2000).

Die Angaben zur Inzidenz der residuellen neuromuskulären Blockade variieren in Abhängigkeit von der zugrunde liegenden Definition und dem Zeitpunkt der Messung der neuromuskulären Funktion zwischen 20 und 50 % (Samet et al. 2005; McLean et al. 2015; Naguib et al. 2007; Kopman et al. 1996; Berg et al. 1997; Maybauer et al. 2007; Eikermann et al. 2008; Cammu et al. 2002; Butterly et al. 2010; Fortier et al. 2015).

Als negative Konsequenzen der residuellen neuromuskulären Blockade werden eine verzögerte Verlegung aus dem OP in den Aufwachraum, ein verlängerter Aufenthalt im Aufwachraum (PACU= post anesthesia care unit) (Butterly et al. 2010), eine verzögerte Entlassung aus dem Krankenhaus sowie ein Anstieg der Krankenhauskosten (Staehr-Raye et al. 2015) aufgeführt.

Eine komplette Erholung von der Wirkung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung ist wichtig, um respiratorische Komplikationen zu vermeiden. Der Kliniker sollte dabei sicherstellen, dass sein Patient eine normale Atmung, einen stabilen oberen Atemweg, normale Atemschutzreflexe sowie uneingeschränktes Schlucken, Husten, Lächeln und Sprechen aufweist (Murphy & Brull 2010).

Klinische Tests, wie beispielsweise längeres Anheben des Kopfes (Wilson et al. 2012; Pavlin et al. 1989; Dam & Guldman 1961) oder die Bestimmung der Hand-Griffstärke (Bodman 1952) sind einfach durchzuführen, weisen jedoch nur eine geringe Sensitivität bei der Detektion einer residuellen neuromuskulären Blockade (definiert als TOF-Ratio < 0,9) auf (11-14%) (Debaene et al. 2003).

Die schlechte Eignung klinischer Tests zur Identifizierung residueller neuromuskulärer Blockaden ist auf die Schwierigkeit bei der Differenzierung zwischen Auswirkungen einer

residuellen neuromuskulären Blockade und Auswirkungen der Anästhetika zurückzuführen. Anästhetika reduzieren ebenfalls die Fähigkeiten des Patienten, Kommandos zu befolgen und maximale, willentlich gesteuerte Muskelkraft auszuüben, sodass klinische Tests nicht oder nur eingeschränkt in der frühen postoperativen Phase angewendet werden können.

Daher sind objektivere Tests erforderlich, um eine vollständige Wiederherstellung der neuromuskulären Funktion sicherzustellen.

Eine Möglichkeit besteht in der wiederholten Stimulation der Nerven („Repetitive nerve stimulation“). Diese Methode wird auch verwendet, um Fehler der neuromuskulären Übertragung, wie beispielsweise bei der Myasthenia Gravis, zu diagnostizieren (Costa et al. 2004).

Hassan Ali hat in den 70er Jahren die train-of-four Stimulation in die klinische Praxis eingeführt. Bei dieser werden vier supramaximale Stimuli mit einer Frequenz von 2 Hz erzeugt und das Verhältnis zwischen der Muskelantwort des vierten zum ersten Stimulus (TOF-Ratio) bestimmt.

Die TOF-Ratio des Musculus adductor pollicis eignet sich gut zur Überwachung der neuromuskulären Blockade. Die Auswahl des Musculus adductor pollicis ist zur Bestimmung der TOF-Ratio besonders geeignet, da er sich an einer gut zugänglichen Stelle befindet und eine unerwünschte, direkte Elektrostimulation (unter Umgehung der neuromuskulären Übertragung) des Muskels auf Grund der örtlichen Distanz zwischen nervalem Stimulationsort am Unterarm und dem Musculus adductor pollicis unwahrscheinlich ist (Ali & Savarese 1976).

Für klinische Zwecke werden zwei Elektroden (eine aktive und eine inaktive) auf der Haut an der Stelle des zu stimulierenden Nervens (Nervus ulnaris) befestigt. Eine Stimulation führt zur Adduktion und Beugung im Daumen-Grundgelenk.

Um sicherzustellen, dass potentielle Störgrößen, wie z.B. die Variabilität des Hautwiderstandes, keinen wesentlichen Einfluss auf die Muskelreaktion und auf die Qualität der Messung haben, werden typischerweise 50-70 mA zur supramaximalen Stimulation verwendet (Fuchs-Buder et al. 2009).

Wenn die Kontraktionskraft des M. adductor pollicis nach Stimulation des N. ulnaris im Einzelzuckungsmodus („single twitch“) weniger als 10% des Ausgangswerts beträgt, so

besteht beim Patienten in der Regel eine durch neuromuskuläre Blockade bedingte messbare Schwäche der Atempumpmuskeln (Zwerchfell und Interkostalmuskeln) (Ali et al. 1975). Im peri-operativen Bereich ist die TOF-Stimulation (Abbildung 1) eine gängige Methode zur Evaluation einer residuellen neuromuskulären Blockade (Samet et al. 2005).

Im Laufe der Zeit stieg der dem Klinker empfohlene Schwellenwert, welcher eine angemessene neuromuskuläre Erholung relevanter Muskeln anzeigt.

Hassan Ali hatte noch eine TOF-Ratio von 0,6-0,7 als ausreichend empfohlen (Ali & Kitz 1973; Ali et al. 1975). Dieser Grad der Erholung reicht üblicherweise aus, um die Augen weit zu öffnen, die Zunge herauszustrecken, zu husten und den Kopf für mindestens 5 Sekunden anzuheben (Ali & Kitz 1973). Neuere Daten aus Stockholm (Sundman et al. 2000; Eriksson 1996) und Essen (Herbstreit et al. 2010; Herbstreit et al. 2009; Eikermann, Gerwig, et al. 2007; Eikermann, Vogt, et al. 2007; Eikermann et al. 2005; Eikermann et al. 2003) zeigen jedoch, dass eine TOF-Ratio $> 0,9$ erforderlich ist, um eine Erholung der klinisch wichtigen Dilatatoren des oberen Atemwegs mit hohem prädiktem Wert vorherzusagen.

Objektive Methoden zur Erfassung der neuromuskulären Übertragung sind im Wesentlichen die Elektromyographie, die Mechanomyographie, die Phonomyographie (Trager et al. 2006), die Akzeleromyographie und die Kinemyographie- eine Methode, welche durch den Hersteller in ein klinisches Standard-Monitorgerät überführt wurde (Dahaba et al. 1999).

Obwohl alle 5 Methoden Vor- und Nachteile aufweisen, sind die Kinematographie und die Akzeleromyographie die wahrscheinlich am weitesten verbreiteten Methoden zur objektiven Darstellung der neuromuskulären Funktion während einer Anästhesie.

Ähnlich wie die Kinematographie ist auch die Akzeleromyographie klinisch verfügbar. Zusätzlich wurde die Akzeleromyographie des Musculus adductor pollicis, ebenso wie die Mechanomyographie, zur Vorhersage einer adäquaten Erholung der Atemfunktion klinisch validiert. Die Erholung des akzelerometrisch gemessenen TOF auf Werte zwischen 0,9-1,0 kann als Indikator für ausreichende neuromuskuläre Erholung der respiratorischen Funktion im klinischen Alltag verwendet werden (Eikermann et al. 2004).

Quantitative Bestimmungen der neuromuskulären Funktion können und sollen, wann immer möglich, peri-operativ durchgeführt werden. Ihr wesentlicher Vorteil liegt in der

Objektivität und Unabhängigkeit von Beurteilungsstrategien des Kliniklers (Hemmerling & Le 2007). Der Einsatz dieser Methoden während des OPs reduziert die Inzidenz post-operativer Muskelschwäche (Frankel et al. 1996).

Interessanterweise hat sich das quantitative Monitoring des TOF bislang nicht als Standardmethode etabliert. Trotz nachgewiesener Überlegenheit des objektiven Monitorings gegenüber anderen subjektiven, zur Diagnose einer Restrelaxierung angewandten Methoden, haben 2/3 der Anästhesisten keinen Zugang zu quantitativen Bestimmungsmethoden der neuromuskulären Blockade (Fuchs-Buder et al. 2008).

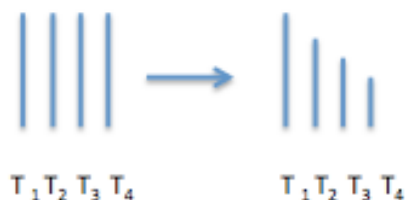


Abbildung 1: Abbildung 1 zeigt das *Stimulationsmuster bei Gabe von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung*. Nach ihrer Verabreichung nimmt die Amplitude der evozierten Reaktionen vom ersten zum vierten Stimulus kontinuierlich ab. Dieses Phänomen wird als *train-of-four fade* bezeichnet.

4. Methoden zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden

Pharmakologische Methoden zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden umfassen Inhibitoren der Acetylcholinesterase, wie beispielsweise Neostigmin, und Wirkstoffe zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung, wie beispielsweise Sugammadex und Calabadian.

Arbous et al. publizierten 2005 eine Fall-Kontroll Studie an Patienten, die sich in den Niederlanden im Zeitraum von 1995 bis 1997 einer Anästhesie unterzogen. Es wurden 883 Patienten, die postoperativ innerhalb von 24 Stunden verstarben oder komatös waren, mit

803 Vergleichspatienten, für die keines von beidem zutraf, verglichen. Die Inzidenz der postoperativen 24 Stunden-Mortalität betrug 8,8 Fälle auf 10,000 Anästhesien, während beim postoperativen Koma eine Inzidenz von 0,5 auf 10,000 Anästhesien gefunden wurde. Die Reversierung von Relaxantien wurde als Ursache für eine reduzierte Inzidenz der 24 Stunden Mortalität und Koma aufgeführt (Arbous et al. 2005).

4.1. Historische Entwicklung der Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung

Jacob Pal, ein Physiologe aus Wien, berichtete im Jahr 1900 von der Antagonisierung von Curare mit Physostigmine (Nickalls 2007). Drei Dekaden später wurde der Acetylcholinesterase-Inhibitor Neostigmin durch Aeschlimann patentiert (Aeschlimann 1933). Seine Wirkungsweise, die Hemmung der Acetylcholinesterase, verursacht eine gesteigerte Verfügbarkeit postsynaptischen Acetylcholins und wurde 1938 durch Cowan diskutiert (Cowan 1938). 1939 erfolgte die Zulassung durch die zuständige amerikanische Food and Drug Administration (FDA). Drei Jahre später sprachen Griffith und Johnson die Empfehlung aus, Prostigmin routinemäßig als Antidot nach d-Tubocurarin-Gebrauch einzusetzen (Griffith et al. 1942).

In den darauffolgenden Jahren wurden nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung als möglicher Ansatz zur Kontrolle der Muskelkraft während einer Operation etabliert (Gray & Rees 1952; Gray & Wilson 1959), ohne jedoch die Frage nach der Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung eindeutig entschieden zu haben (Srivastava & Hunter 2009; Miller 1977; Churchill-Davidson 1965; Baillard et al. 2005; Osmer et al. 1996; Naguib et al. 2010).

Aktuelle Studien zeigen, dass der Einsatz von Medikamenten zur Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung zunimmt (Ledowski et al. 2015; Zhang et al. 2009). Dies lässt sich möglicherweise auf die Publikation neuer Daten zurückführen, welche auf die Gefahren einer residuellen neuromuskulären Blockade hinweisen (Sundman et al. 2000; Herbstreit et al. 2009; Eikermann, Vogt, et al. 2007).

4.2. Pharmakologische Mechanismen der Reversierung neuromuskulärer Blockaden

Die unterschiedlichen Mechanismen zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden werden in Abbildung 2 dargestellt.

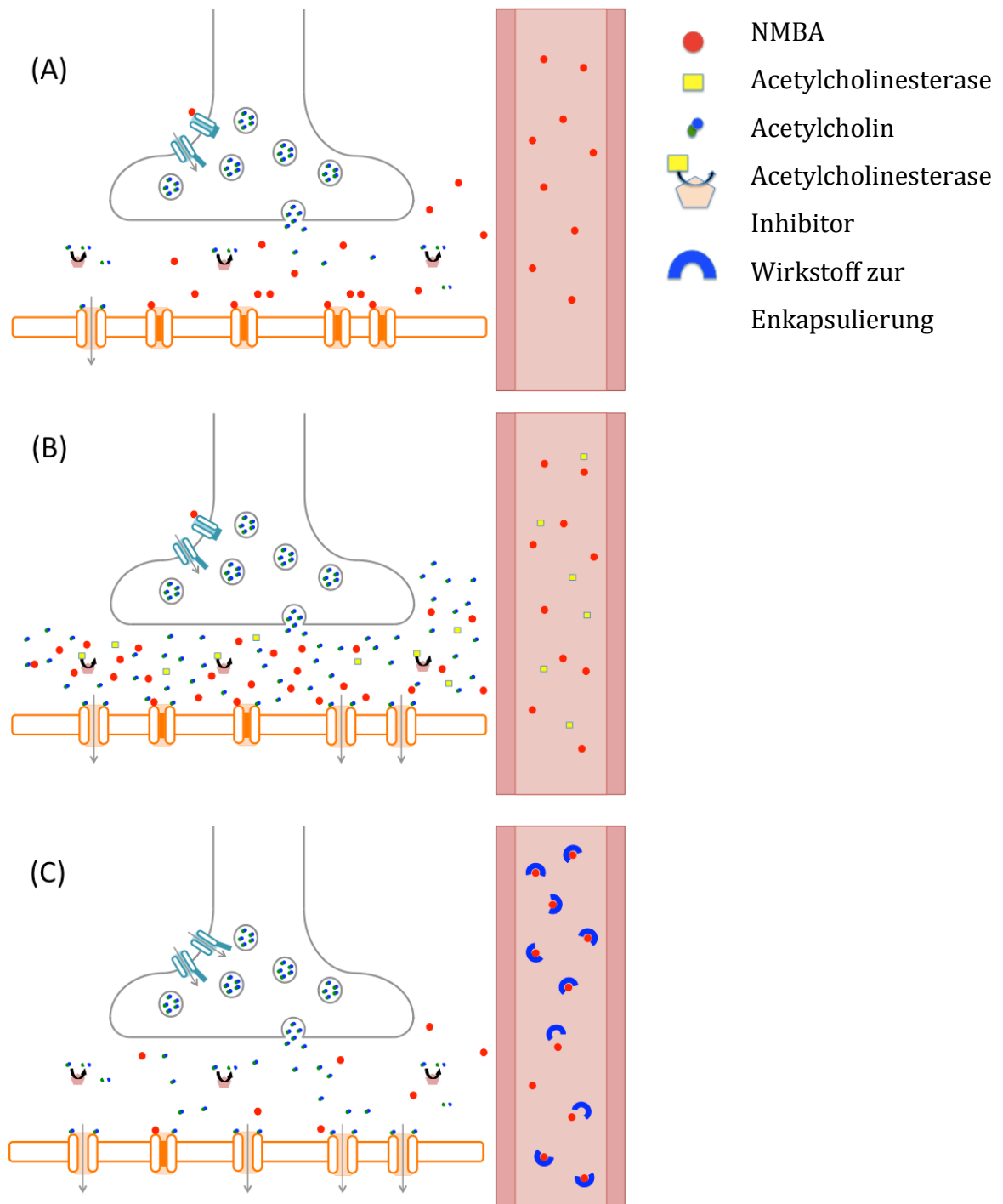


Abbildung 2: *Die unterschiedlichen Mechanismen zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden.*

(A) Wirkmechanismus nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung

Präsynaptische nikotinerge Rezeptoren regulieren die Ausschüttung von Acetylcholin in den synaptischen Spalt durch einen positiven und negativen Feedback-Mechanismus in Abhängigkeit von der Acetylcholin-Konzentration im synaptischen Spalt. Nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung sind kompetitive Antagonisten am prä- und postsynaptischen Acetylcholin-Rezeptor. Sie produzieren eine Abnahme der Kontraktion und senken die Muskelkraft durch prä- und postsynaptische Mechanismen. Durch die Bindung an eine oder beide Untereinheiten des postsynaptischen nikotinergen Acetylcholinrezeptors verhindern Blocker der neuromuskulären Übertragung die Öffnung des Ionenkanals an der postsynaptischen Membran und damit die Entstehung eines Aktionspotentials.

(B) Wirkmechanismus von Acetylcholinesterase-Inhibitoren

Acetylcholinesterase-Inhibitoren gelangen über Diffusion in den synaptischen Spalt. Sie reversieren geringe Stufen der neuromuskulären Blockade (ab Erholung des TOF-count 2-4) innerhalb von 10-15 Minuten. Durch den sogenannten „Ceiling“ Effekt (Sättigungseffekt= trotz Dosissteigerung keine Zunahme der Wirkung) ist die Reversierung tiefer Stufen der neuromuskulären Blockade nicht möglich. Die Wirkung von Acetylcholin wird durch die Cholinesterase terminiert, welche das Acetylcholin innerhalb weniger Millisekunden in Cholin und Essigsäure spaltet und damit die Acetylcholin Konzentration reguliert.

(C) Wirkmechanismus von Wirkstoffen zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung

Medikamente zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung binden Moleküle der Blocker der neuromuskulären Übertragung innerhalb der Blutgefäße und verhindern auf diese Weise, dass sie an Rezeptoren binden können. Der Reversierungsmechanismus kann dadurch erklärt werden, dass freie Moleküle der Blocker der neuromuskulären Übertragung aus dem synaptischen Spalt in die Blutgefäße diffundieren, um das vorhandene Konzentrationsgefälle auszugleichen, und dort ebenfalls gebunden bzw. inaktiviert werden. Dieser Mechanismus erklärt den Anstieg der Konzentration an Blockern der neuromuskulären Übertragung im Plasma nach der

Injektion von Wirkstoffen zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung (Epemolu et al. 2003).

4.2.1. Acetylcholinesterase-Inhibitoren

Das Enzym Acetylcholinesterase ist an muskarinergen und nikotinergen Synapsen lokalisiert und hydrolysiert freie Acetylcholin-Moleküle in Cholin und Essigsäure (Nair & Hunter 2004). Der Neurotransmitter Acetylcholin wird von der prä-synaptischen Membran in den synaptischen Spalt ausgeschüttet und bindet an der post-synaptischen Membran an muskarinerge und nikotinerge Acetylcholin-Rezeptoren (Colović et al. 2013). Acetylcholinesterase-Inhibitoren steigern die Konzentration von Acetylcholin im synaptischen Spalt, indem sie deren Abbau durch die Acetylcholinesterase hemmen (Barrow & Johnson 1966).

Acetylcholinesterase-Inhibitoren können die Acetylcholinesterase reversibel oder irreversibel hemmen, wobei lediglich die Gruppe der reversiblen Inhibitoren im klinischen Bereich zum Einsatz kommt (Colović et al. 2013).

Die Pseudocholinesterase, auch Plasmacholinesterase genannt, ist im zentralen Nervensystem weit verbreitet (Darvesh et al. 2003), fehlt jedoch weitestgehend im synaptischen Spalt (Blondet et al. 2010). Sie hydrolysiert den depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung Succinylcholin zu Succinylmonocholin (Gissen et al. 1966), sodass eine Diffusion von Succinylcholin aus dem synaptischen Spalt erforderlich ist, um die neuromuskuläre Blockade durch Succinylcholin zu beenden (Miller et al. 2014).

Acetylcholinesterase-Inhibitoren steigern die Acetylcholin-Konzentration nicht nur im synaptischen Spalt, sondern auch an muskarinergen Rezeptoren, sodass muskarinerge Nebenwirkungen, wie beispielsweise Bradykardie und Bronchospasmus, entstehen (Srivastava & Hunter 2009).

Um das Auftreten muskarinerner Nebenwirkungen zu reduzieren, werden sie immer mit anti-muskarinerge Medikamenten (z.B. Glycopyrrolat, Atropin) kombiniert (Ramamurthy et al. 1972). Muskarinerge Nebenwirkungen umfassen Übelkeit und Erbrechen (Srivastava & Hunter 2009; Cheng et al. 2005; Løvstad et al. 2001), Veränderungen im EKG wie Bradykardie, Verlängerungen der QT-Zeit (Srivastava & Hunter 2009; Gottlieb & Sweet

1963; Erbaş et al. 2014), Bronchospasmen (Srivastava & Hunter 2009; Pratt 1988), verstärkte Speichelsekretion (Schubert & Izutsu 1987) und Miosis (Nair & Hunter 2004).

Auf Grund ihrer indirekten Wirkungsweise und eines Ceiling-Effektes können Acetylcholinesterase-Inhibitoren lediglich geringe Level neuromuskulärer Blockade reversieren (Caldwell et al. 1986; Srivastava & Hunter 2009).

In einigen Fällen ist die Dauer der Aktivität des Wirkstoffes zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung kürzer als die Aktivität des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung – insbesondere bei Verwendung hoher Dosen steroidaler Blocker der neuromuskulären Übertragung -, wodurch es zu einer sogenannten Re-curarisierung kommen kann. Dies bedeutet, dass nach anfänglicher Erholung durch Abklingen der Acetylcholin-Inhibitor-Effekte eine wiedereintretende partielle neuromuskuläre Blockade eintreten kann.

4.2.1.1. Neostigmin

Neostigmin ist der bekannteste Vertreter der Acetylcholin-Inhibitoren. Die Substanz befindet sich bereits mehr als 50 Jahre als Wirkstoff zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung auf dem Markt. Erst im Jahr 2013 wurde Neostigmin unter dem Handelsnamen „Bloxiverz“ zur Reversierung nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung nach einer Operation bei Erwachsenen und Kindern aller Altersklassen durch die Food and Drug Administration zugelassen (FDA).

Neostigmin besitzt als zentrales Element einen quartären Stickstoff, der via Polarität ein Eindringen in das zentrale Nervensystem verhindert.

Das Medikament wirkt über eine Blockade der Acetylcholinesterase, welche den Abbau von Acetylcholin katalysiert (Colovic et al. 2013).

Zur Vermeidung muskarinergischer Wirkungen wird Neostigmin im klinischen Gebrauch mit Anticholinergika wie Atropin oder Glycopyrrolat kombiniert (Mirakhur et al. 1977).

Bei der Reversierung steroidal Blocker der neuromuskulären Übertragung mit Neostigmin wurde eine gesteigerte Inzidenz respiratorischer Komplikationen beobachtet. Hierzu zählen eine Atelektase und Lungenödem (Sasaki et al. 2014) mit postoperativer Entsättigung $< 90\%$ (Grosse-Sundrup et al. 2012), ein verlängerter Aufenthalt auf der Intensivstation sowie eine erhöhte Reintubationsrate (Sasaki et al. 2014; Grosse-Sundrup et al. 2012; McLean et al. 2015).

Diese respiratorischen Komplikationen lassen sich im Kern auf zwei Probleme zurückführen:

Die erste Problematik beinhaltet, dass hohe Neostigmin-Dosen bei Patienten mit kompletter Erholung von der neuromuskulären Blockade zu einem depolarisierenden Block (Nair & Hunter 2004) und damit zu respiratorischen Komplikationen führen können. Hierzu zählen ein Anstieg der Kollabilität der oberen Atemwege, eine Einschränkung des Genioglossus-Muskels in seiner Antwort auf pharyngealen Unterdruck sowie eine Schwächung des Dilatormuskels der oberen Atemwege, der Diaphragmafunktion und der Atmung (Herbstreit et al. 2010; Eikermann, Fassbender, et al. 2007).

Als weiteres Problem stellt sich die Fehleinschätzung dar, ein tiefer Level neuromuskulärer Blockade könne durch hohe Dosen Neostigmin reversiert werden. Der erhoffte Nutzen einer solchen Praxis ist die Aufrechterhaltung einer tiefen Relaxierung bis zum Ende der Operation und damit erleichterte Operationsbedingungen bei zugleich schneller Erholung der neuromuskulären Übertragung des Patienten.

Durch dieses Vorgehen kann es jedoch zu einer inkompletten Reversierung kommen, die ohne quantitatives neuromuskuläres Monitoring (der TOF count ist typischerweise 4, aber die TOF-Ratio nur 0,2 - 0,5) nur schwer nachweisbar ist. Die inkomplette Reversierung bleibt häufig vom Anästhesisten unbemerkt, da deren Folgen (z.B. eine Aspirationspneumonie) oft erst nach mehreren Tagen klinisch relevant werden (McLean et al. 2015). Zu diesem Zeitpunkt befindet sich der Patient meist bereits auf einer normalen Station oder er wurde nach Hause entlassen, ohne dass seine Vitalparameter kontinuierlich überwacht wurden, um respiratorische Komplikationen frühzeitig aufzudecken.

Zusammenfassend sollte für eine sichere Anwendung von Neostigmin dessen Dosierung anhand objektiver Monitorkontrollen bestimmt werden. Im Falle einer unzureichenden

Erholung der TOF-Antwort muss eine weitere spontane Erholung der neuromuskulären Übertragung abgewartet werden. Bei Erholung einer TOF-Ratio auf 0,9 oder 1 ist keine Neostigmingabe erforderlich (Kopman & Eikermann 2009).

Neostigmin hat als Medikament zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung eine geringe therapeutische Breite. Bei adäquater Dosierung von Neostigmin basierend auf den Ergebnissen der TOF-Antwort können jedoch respiratorische Nebenwirkungen nicht-depolarisierender Muskelrelaxantien sowie Neostigmin-bedingte Komplikationen weitestgehend eliminiert werden (McLean et al. 2015).

4.2.1.2. Pyridostigmin und Edrophonium

Pyridostigmin (Handelsnamen „Mestinon“) ist ein reversibler Acetylcholinesterase-Inhibitor mit einer quartären Amin-Struktur. Die Substanz weist eine langsamere Anschlagszeit und eine länger anhaltende Wirkdauer als Neostigmin (Miller et al. 1974) auf.

Pyridostigmin kam für viele Jahre als wesentliche Medikation bei der Erkrankung Myasthenia Gravis zum Einsatz (Maggi & Mantegazza 2011). Eine Zulassung durch die Food and Drug Administration besteht zur Reversierung nicht-depolarisierender Muskelrelaxantien (Stewart & Catanzaro 2005; Mestinon).

Als weiteres Mitglied der Familie der Acetylcholinesterase-Inhibitoren weist Edrophonium (Handelsname „Enlon“) einen kürzeren Wirkeintritt bei gleichzeitig kürzerer Wirkdauer auf, wodurch es für die Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung schlechter geeignet ist als Pyridostigmin.

Edrophonium ist ebenfalls durch die Food and Drug Administration zur Reversierung nicht-depolarisierender Muskelrelaxantien zugelassen.

4.2.2. Wirkstoffe zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung

In ihrem in der Zeitschrift „Science“ im Jahr 1983 veröffentlichten Aufsatz „Cavitands: Organic Hosts with Enforced Cavities“, beschrieben Cram et al. die Entwicklung von Makromolekülen, welche, basierend auf ihrer chemischen Struktur, Hohlräume aufweisen, die groß genug sind, um kleinere Moleküle einzukapseln (Cram 1983). Dieser Prozess der chemischen Einkapselung wird in der Folge als „Enkapsulierung“ beschrieben.

Um die Bandbreite von Gast-Molekülen zu erweitern, die in diese Höhlen passen, wurden mehrere Makromoleküle miteinander verbunden und als sogenannte „Carceranden“, abgeleitet vom lateinischen carcer (=Gefängnis), bezeichnet (Warmuth et al. 2003).

Bei der Reversierung durch Enkapsulierung handelt es sich um einen neu entwickelten pharmakologischen Mechanismus zur schnellen Aufhebung aller Level neuromuskulärer Blockaden, die es dem Kliniker ermöglicht, bis zum Ende der Operation eine tiefe Relaxierung aufrecht zu erhalten. Durch ihren Einsatz wird die Konzentration des Acetylcholins nicht beeinflusst.

Stattdessen werden Gast-Moleküle eingekapselt, die auf diese Weise von der Umgebung abgeschirmt und unmetabolisiert über die Nieren ausgeschieden werden.

Die bedeutendsten Vertreter zur Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung durch Enkapsulierung sind Sugammadex und Calabadiol. Während sowohl Sugammadex, als auch Calabadiol für die Enkapsulierung der steroidalen nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung Vecuronium und Rocuronium geeignet sind, umfasst das Spektrum von Calabadiol zusätzlich das Benzylisoquinolin Cisatracurium (Haerter et al. 2015). Ein Beispiel für kommerziell zum Einsatz kommende Substanzen zur Enkapsulierung ist der Raumluftfrischer „Febreze“ (Trinh et al. 1994).

Sugammadex mit dem Handelsnamen „Bridion“ ist momentan (2016) in mehr als 50 Ländern, einschließlich Europa und den US, zur Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung zugelassen.

Es wurde bereits mehr als 12 Millionen mal verschrieben. Die Zulassung von Sugammadex für den europäischen Markt erfolgte durch die Europäische Union am 25. Juli 2008 für die Reversierung von Rocuronium und Vecuronium bei Erwachsenen sowie

für die routinemäßige Reversierung von Rocuronium bei Kindern und Heranwachsenden von 2-17 Jahren (EMA, product characteristics). Am 15. Dezember 2015 wurde Sugammadex nach dreifacher Ablehnung durch die Food and Drug Administration (FDA, Approval status 2015), zuletzt auf Grund aufgetretener Überempfindlichkeitsreaktionen (Menéndez-Ozcoidi et al. 2011) sowie dosis-abhängiger Blutungsereignisse, bei denen eine gesteigerte aktivierte partielle Thromboplastin- und Prothrombin Zeit gemessen wurde (Takazawa et al. 2014; De Kam et al. 2014), auch für den amerikanischen Markt zur Reversierung von durch Rocuronium und Vecuronium induzierte neuromuskuläre Blockaden zugelassen.

Calabadion, auf das nachfolgend näher eingegangen wird, ist ein Breitspektrum-Medikament zur Reversierung von neuromuskulären Blockaden, welches sich zur Zeit noch in der Entwicklungsphase befindet.

Bei intravenöser Injektion eines enkapsulierenden Medikamentes bindet dieses sofort freie intravaskuläre Gast-Moleküle, wodurch sich ein Konzentrationsgradient zwischen der intravaskulären Komponente und dem synaptischen Spalt entwickelt.

Hierdurch kommt es zu einer Abnahme der Relaxantienkonzentration im synaptischen Spalt und damit zu einer beschleunigten Erholung der neuromuskulären Übertragung (Schaller & Fink 2013; Booij 2009). Im Gegensatz zum Konzentrationsrückgang im synaptischen Spalt kommt es im Plasma sogar zu einem Anstieg der Konzentration von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung (Epemolu et al. 2003).

Die Reversierung von Medikamenten durch Enkapsulierung birgt das Risiko einer unspezifischen, unerwünschten Bindung von anderen Molekülen.

So enkapsuliert beispielsweise Sugammadex den Gerinnungsfaktor Xa und Kontrazeptiva (EMA, Produktinformationen) und Calabadion enkapsuliert Kokain (Stewart & Catanzaro 2005; Grabitz et al. 2015).

Unter dem Vorgang einer unspezifischen Bindung (nonspecific binding) ist zu verstehen, dass ein Molekül an ein anderes als das Zielmolekül bindet. Bei der sogenannten Ersetzung (displacement) wird in der Bindung zweier Moleküle eines durch eine andere Komponente ersetzt.

Das Risiko der unspezifischen Bindung wird durch eine hohe Selektivität des Wirkstoffes zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung gegenüber dem nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung reduziert. Außerdem führt eine hohe Affinität des Wirkstoffes zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung zu seinem Gast-Molekül zu einer erhöhten Stabilität des Komplexes. Hierdurch verringert sich die Gefahr, dass das Gast-Molekül durch ein anderes Molekül mit höherer Affinität zu dem Wirkstoff zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung ersetzt wird (sog. displacement).

Bei Übertragung dieses Verdrängungsprozesses auf den Einsatz von Relaxantien hätte dies einen erneuten Anstieg der Konzentration des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung zur Folge, sodass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer erneuten Relaxierung steigt.

Die Bindungsaffinität des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung von Calabadion 2 im Vergleich zu Calabadion 1 (Hoffmann et al. 2013) hat sich fast um das 100-fache (Haerter et al. 2015) gesteigert. Calabadion 2 bindet 18900-fach besser an Rocuronium als an den Transmitter Acetylcholin. Dies ist eine deutliche Verbesserung zu Calabadion 1, welches nur 350-fach besser an Rocuronium als an Acetylcholin bindet. Durch die stärkere Bindungsaffinität reduziert sich bei Calabadion 2 das Risiko eines Displacements durch Acetylcholin.

4.2.2.1. Sugammadex

Sugammadex (Handelsnamen Bridion) zählt zur Gruppe der γ -Cyclodextrine (Caldwell & Miller 2009) und ist der erste zur Reversierung von durch Rocuronium und Vecuronium ausgelöste neuromuskuläre Blockaden klinisch zum Einsatz kommende Wirkstoff zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung.

Sugammadex wurde 2002 durch Anton Bom zur Reversierung von Rocuronium-Bromid entwickelt (Bom et al. 2002).

Durch die Enkapsulierung von Relaxantien in den Gefäßen wird ein Konzentrationsgefälle freier Relaxantien vom Gewebe zur Blutbahn erzeugt, sodass durch Diffusion der Relaxantien aus dem synaptischen Spalt eine Aufhebung der Blockade erfolgt (Booij 2009). Auf Grund des direkten Reversierungsmechanismus kann Sugammadex im Gegensatz zu Neostigmin auch eine tiefe neuromuskuläre Blockade reversieren (Jones et al. 2008), ohne nikotinerge oder muskarinerge Rezeptoren zu beeinflussen. Bridion verringert die Zeit zur Erholung der neuromuskulären Übertragung (TOF 0,9) nach Rocuronium induzierter neuromuskulärer Blockade im Vergleich zur Reversierung mit Neostigmin signifikant (107 ± 61 s vs 1044 ± 590 s) (Sacan et al. 2007).

Durch seinen schnellen Mechanismus der Enkapsulierung bei Rocuronium induzierter Blockade wurde Sugammadex oft als Lösung für eine “cannot intubate cannot ventilate” (keine Möglichkeit zur Intubation bei fehlender Möglichkeit zur Beatmung) Problematik diskutiert (C. Lee et al. 2009; Curtis et al. 2012).

Sugammadex kann dazu beitragen, die Inzidenz einer residuellen neuromuskulären Blockade zu reduzieren. Brueckmann et al. publizierten, dass der Einsatz von Sugammadex zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung eine postoperative Restblockade verhindern kann (Brueckmann et al. 2015).

Wirksamkeitsstudien (sogenannte effectiveness-studies) zeigen, dass Anästhesisten Sugammadex oft nicht auf sachgerechte Art verwenden, wie beispielsweise ohne TOF-Monitoring oder bei Verwendung einer inkorrekten Dosierung.

Eine residuelle Blockade trat bei 5 % der Patienten nach Sugammadexgabe ohne den Einsatz eines TOF-Monitorings auf (Kotake et al. 2013).

Eine erneute Blockade oder inkomplette Wiederherstellung der neuromuskulären Übertragung nach der Verabreichung von Wirkstoffen zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung ist nur dann möglich, wenn die Anzahl zirkulierender Wirkstoffe zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung nicht ausreichend ist, um eine kritische Anzahl von Rocuronium Molekülen zu binden. Ein Sugammadex Molekül bindet an ein Rocuronium Molekül. Wenn eine höhere Dosis Rocuronium gefolgt von einer zu geringen Dosis Sugammadex verabreicht werden, ist es möglich, dass zuvor umverteilte Moleküle nicht-

depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mobilisiert werden und damit eine verspätete neuromuskuläre Blockade erzeugen (Le Corre et al. 2011).

Wirkstoffe zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung haben einen Sicherheitsvorteil bei Injektion nach kompletter Wiederherstellung der neuromuskulären Übertragung. Im Gegensatz zu Neostigmin, welches zu einer signifikanten Beeinträchtigung der Muskelaktivität des Dilatators der oberen Atemwege führt, wenn es nach der Wiedererlangung neuromuskulärer Aktivität injiziert wird, kam es nach Sugammadex Verabreichung unter den gleichen Bedingungen zu keiner Einschränkung der Genioglossusaktivität und der Atmung (Eikermann et al. 2008).

Nebenwirkungen in Folge einer Sugammadexgabe können mittels „Displacement“ von Rocuronium und Vecuronium durch andere Moleküle entstehen, welche eine höhere Affinität zu Sugammadex besitzen. Des Weiteren können Nebenwirkungen durch die bereits beschriebene unspezifische Bindung von Sugammadex an andere Moleküle oder Rezeptoren auftreten.

Auf diesem Mechanismus beruhend wurden Beeinträchtigungen der Gerinnung beobachtet. De Kam et al. beschrieben in einer an gesunden Freiwilligen durchgeführten Studie eine Sugammadex-induzierte dosisabhängige transiente Verlängerung der aPTT und des INR (De Kam et al. 2014). RaheMeyer et al. bestätigte die Sugammadex-induzierte Erhöhung der aPTT in einer randomisierten Studie (1198 Patienten). Ein signifikanter Anstieg der Blutungsereignisse nach Sugammadexgabe wurde jedoch nicht beobachtet (Rahe-Meyer et al. 2014). Studien zur Evaluation des Displacement-Risikos bei Sugammadexgabe mit 300 potentiellen Gastmolekülen zeigten, dass es bei drei der untersuchten 300 Stoffe (Flucloxacillin, Toremifen, Fusidinsäure) zu einer Displacement-Interaktion bei Sugammadexgabe kam (Zwiers et al. 2012; Kam et al. 2012).

Daher empfiehlt die EMA, Sugammadex nach Administration von Flucloxacillin, Toremifen oder Fusidinsäure, mit Bedacht zu verabreichen (EMA, product characteristics).

4.2.2.2. Calabadienderivate

Calabadienderivate zählen zur Familie der Cucurbiturile. Cucurbit(n)urile (CBn)(n=Anzahl der Glycoluril Einheiten, n=5-10, n=9 noch nicht isoliert) werden durch eine Kondensationsreaktion zwischen Glycoluril und Formaldehyd in einem sauren Milieu synthetisiert (Schneider 2013).

Der Name Cucurbituril ist auf seine Form zurückzuführen, die dem Kürbis Cucurbitaceae ähnelt.

Cucurbiturile haben die besondere Fähigkeit, Medikamente mit Löslichkeitsproblemen klinisch einsatzfähig zu machen (Ma 2012). Sie können in eine zyklische oder azyklische Gruppe unterteilt werden, von denen die zyklischen für den Medikamententransport eingesetzt werden (Miskolczy et al. 2011), während die acyclische Gruppe bei der Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung verwendet wird (Haerter et al. 2015; Hoffmann et al. 2013). Die acyclischen Cucurbiturile weisen eine flexible Struktur bei der Einkapsulierung von Molekülen auf.

Die acyclischen Mitglieder der Cucurbituril-Familie werden Calabadienderivate genannt (Ma, Zhang, et al. 2012). Calabadienderivate weisen eine gute Löslichkeit auf und ihre Bindungsaffinität gegenüber Kationen ist auf Grund elektrostatischer Interaktionen hoch (Hoffmann et al. 2013). Sie besitzen die Fähigkeit zur Einkapsulierung der steroidalen Muskelrelaxantien Vecuronium und Rocuronium sowie des Benzylisoquinolines Cisatracurium.

Calabadienderivate der 1. Generation

Calabadienderivate der 1. Generation setzen sich aus einem zentralen mit Methylenbrücken ausgestatteten Glycoluril Tetramer zusammen, welches von zwei O-Xylylen Ringen umgeben wird. Vier Sulfonatgruppen weisen von der Öffnung weg und formen so eine C-förmige Struktur, die erforderlich ist, um Gastmoleküle zu binden (Hoffmann et al. 2013).

Calabadien 1 reversiert durch das Benzylisoquinolin Cisatracurium und die Steroide Rocuronium und Vecuronium induzierte neuromuskuläre Blockaden, ohne dabei die Herzfrequenz, den Blutdruck, die arteriellen Blutgase oder den pH zu verändern (Hoffmann et al. 2013).

Die in vitro Bindungsaffinität von Calabadion 1 gegenüber Rocuronium ist geringfügig schwächer als die von Sugammadex (Ma et al. 2014). Im Gegensatz zu Sugammadex hat Calabadion 1 keine Lücke bei der Reversierung von Benzylisoquinolinen, wodurch es im perioperativen Bereich eingesetzt werden könnte, da die verbliebenen Benzylisoquinolin-Moleküle spontan und vorhersagbar über die Hoffmann-Elimination unabhängig von der Organfunktionen abgebaut werden.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass Calabadion 1 in vitro stabile Komplexe mit lokalen Anästhetika in wässriger Lösung formt (Ma, Glassenberg, et al. 2012), wodurch sich die Möglichkeit zur Anästhesie-Reversierung ergibt (Hoffmann et al. 2013).

Calabadionderivate der 2. Generation

Calabadion 2 ist im Hinblick auf die Selektivität seiner Bindung an nicht-depolarisierende Hemmstoffe der neuromuskulären Übertragung eine Weiterentwicklung von Calabadion 1. Die Nutzung von Calabadion 2 zur Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung ermöglicht den Einsatz geringerer Dosierungen, verglichen mit Sugammadex und Calabadion 1, wodurch die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Nebenwirkungen oder einer unselektiven Bindung an andere Moleküle gesenkt wird. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass die Nebenwirkungen von Medikamenten zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung dosisabhängig sind (De Kam et al. 2014), sodass eine hohe Selektivität zum Zielmolekül einen pharmakologischen Vorteil darstellt und von Bedeutung sein wird, um die niedrigste mögliche Dosierung zu finden.

Calabadion 2 besteht aus einer hydrophoben Öffnung, welche durch zwei symmetrisch-äquivalente elektrostatisch negative Ureidyl C=O Einheiten gebildet wird. Ex vivo zeigte Calabadion 2 eine signifikant höhere Bindungsaffinität gegenüber Rocuronium im Vergleich zu Sugammadex, die sich darauf zurückführen lässt, dass eine hydrophobe Box, die komplementär zur hydrophoben steroidal Struktur von Rocuronium ist, sowie starke Ionen-Dipol Interaktionen mit Rocuronium entstehen (Haerter et al. 2015).

Die Bindungsaffinität (K_a)- Werte für Rocuronium

$3.4 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ für Calabadion 2

$3.8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ für Sugammadex

Calabadion 2 zeigt nicht nur eine 89-fach höhere Affinität gegenüber Rocuronium als Sugammadex, sondern weist auch insbesondere gegenüber dem Neurotransmitter Acetylcholin eine erhöhte Bindungsselektivität auf. Es bindet 18900-fach besser Rocuronium als Acetylcholin, wohingegen Calabadion 1 lediglich 350 mal affiner gegenüber Rocuronium als gegenüber Acetylcholin ist.

In vivo Experimente ergaben auf Grund einer Steigerung der Bindungsaffinität eine schnellere Reversierung durch Calabadion 2 als durch seinen Vorgänger Calabadion 1, die vermutlich auf eine verbesserte Selektivität zurückzuführen ist.

In mit Rocuronium paralyisierten Ratten ist die Zeit zur Wiedererlangung der Atmung bei Calabadion 1 Reversierung bei gleicher Dosierung 5 mal länger als bei einer Reversierung durch Calabadion 2 (11.25 Sekunden vs. 59.25 Sekunden). Dies ist beeindruckend, da die Distribution des Medikamentes von der Blutbahn bis zur Muskulatur bereits ca. 6-8 Sekunden in Anspruch nimmt.

Obwohl Calabadion 1 auch eine durch das Benzylisoquinolin Cisatracurium induzierte neuromuskuläre Blockade in Ratten reversieren kann, sind die erforderlichen Dosen sehr hoch. Die therapeutische Breite wäre zu klein, um in der Klinik eine Anwendung zu finden. Einzig bei der höchsten getesteten Calabadion 1-Dosis (150 mg/kg) kam es zu einer relevanten Erholung des TOF Wertes (0,9) nach bis zu 87 Sekunden.

Die halbe Menge Calabadion 2 benötigte mit 14 Sekunden nur wenig mehr als eine Zirkulationszeit bis zur Erholung des TOF Wertes.

Verglichen mit Placebo wurde die Erholungszeit nach Calabadion 2-Gabe um 98 % reduziert.

Basierend auf den bislang publizierten Daten (Hoffmann et al. 2013; Haerter et al. 2015) ist Calabadion 2 das erste Medikament zur Reversierung des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung Cisatracurium mit klinischem Potential.

4.2.3. Cystein-Reversierung

Die Verabreichung von Cystein beschleunigt die Erholung von einer Gantacurium induzierten neuromuskulären Blockade (Savarese et al. 2010).

Das nicht-depolarisierende Relaxans Gantacurium wird schnell inaktiviert, indem das eigene Chlormolekül durch endogenes Cystein ausgetauscht wird, wodurch ein Produkt entsteht, welches nicht mehr an Acetylcholin-Rezeptoren binden kann (Lien et al. 2009)(Abbildung 3).

Ein weiterer Weg des Abbaus von Gantacurium ist die deutlich langsamere pH-abhängige Ester-Hydrolyse (Heerdt et al. 2015). Im Gegensatz zum reversiblen Prozess der Enkapsulierung verursacht Cystein eine irreversible Inaktivierung des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung durch gesteigerten Abbau. Die Unumkehrbarkeit dieses Prozesses bewahrt den Patienten vor einer wiederauftretenden Parese (Savarese et al. 2010).

Während die langsame intravenöse Verabreichung von L-Cystein als sicher erachtet wurde (Savarese et al. 2010), bleibt unklar, ob eine intravenöse Bolus-Verabreichung der gleichen Größenordnung zu toxischen Ergebnissen führt. Die optimale Dosierung von L-Cystein zur Reversierung einer vollständigen Paralyse im Menschen wurde auf 30-50 mg/kg geschätzt. Bei dem Vierfachen dieser Dosierung wurde im Rahmen einer Studie an Hunden keine akute Organtoxizität beobachtet (Sunaga et al. 2010).

Ein anhaltender Überschuss von L-Cystein im zentralen Nervensystem könnte sich toxisch auswirken und zur Neurodegeneration und Krampfanfällen beitragen (Janáky et al. 2000).

Es wurde auch ein Zusammenhang hoher Cystein-Konzentrationen mit der Entstehung einer rheumatoiden Arthritis (Bradley et al. 1994), der Parkinsonerkrankung und der Alzheimererkrankung (Heafield et al. 1990) gefunden.

Eine endogene Regulierung der Cystein-Level erfolgt unter anderem durch die im Wesentlichen in der Leber lokalisierte Cystein-Dioxygenase. Dieses Enzym baut Cystein zu Cysteinsulfinat ab, welches im Anschluss weiter zu weniger toxischen Endprodukten wie Taurin und Pyruvat metabolisiert wird (Garcia & Stipanuk 1992).

Auch die Umwandlung von Cystein in Gluthation ist für die Cystein-Regulation von großer Bedeutung (Garcia & Stipanuk 1992). Zur Steigerung der Sicherheit und Effektivität beim Einsatz von Cystein sind weitere Untersuchungen erforderlich.

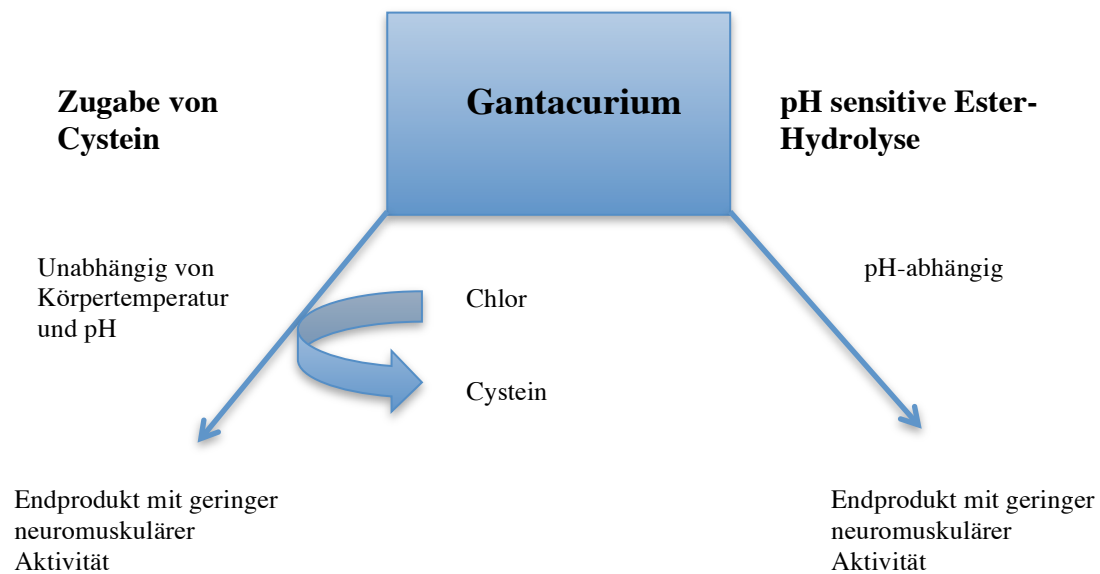


Abbildung 3: Die Metabolisierung von Gantacurium erfolgt über zwei verschiedene Abbauewege. Unabhängig von Körpertemperatur und pH verläuft der schnellere Abbaueweg über den Austausch von Chlor durch endogene Cysteinmoleküle. Der langsamere Abbaueweg erfolgt über eine Ester-Hydrolyse und ist pH-abhängig. Durch exogene Zufuhr von Cystein kann der schnellere Abbaueweg gefördert werden.

5. Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung bei Patienten mit Organversagen

Bei Patienten mit Leber- oder Nierenversagen müssen bestimmte Faktoren, wie beispielsweise das Verteilungsvolumen und die Elimination des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung und des Wirkstoffes zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung bedacht werden.

5.1. Nierenversagen

Die Ausscheidung steroidaler, nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung, ist bei Patienten mit Nierenversagen verlangsamt, wodurch sich ihre Wirkung verlängert (Slater et al. 1988; Bevan et al. 1982).

Demgegenüber werden Benzylisoquinoline durch die sogenannte „Hoffmann Elimination“ sowie eine Ester-Hydrolyse metabolisiert. Diese chemischen Reaktionen laufen unabhängig von der renalen Funktion ab (Fisher et al. 1986).

Bei Patienten mit Nierenversagen müssen Medikamente zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mit Bedacht eingesetzt werden, da der Komplex aus dem Wirkstoff zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung und dem Relaxans renal eliminiert wird (Haerter et al. 2015; Hoffmann et al. 2013; Peeters et al. 2011).

Als Folge des durch das Nierenversagen gesteigerten Verteilungsvolumens sinkt die Geschwindigkeit der Muskelrelaxantien-Reversierung durch Sugammadex im Vergleich zur Normalbevölkerung (Panhuizen et al. 2015; Staals et al. 2011; Staals et al. 2008; Lenz et al. 2007; Williams et al. 1999; Bishop & Hornbein 1983).

Normalerweise findet die renale Eliminierung des Komplexes aus dem Medikament zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung und dem Relaxans innerhalb weniger Stunden statt (Haerter et al. 2015). Durch Akkumulation der Komplexe im Körper kann es intraoperativ dazu kommen, dass das Relaxans durch ein endogenes Molekül oder ein verabreichtes Medikament mit höherer Affinität zum

Medikament zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung ersetzt wird (sogenanntes displacement).

Dieses Risiko des displacements ist auch bei der postoperativen Verabreichung von Medikamenten immanent und kann sogar noch nach der Entlassung des Patienten von der Intensivstation vorhanden sein, da durch die verminderte renale Eliminierung die Komplexe länger im Körper verweilen.

Aus diesen Gründen spricht sich die EMA gegen den Gebrauch von Sugammadex bei Patienten mit schweren Formen der Niereneinschränkung, einschließlich derer mit Dialyse-Erfordernis (Kreatinin-Clearance < 30 ml/min), aus (EMA, product characteristics).

Auch der Einsatz von Acetylcholinesterase-Inhibitoren ist bei Patienten mit Nierenversagen mit zusätzlichen Risiken behaftet. Da circa 50-75 % der Plasma-Clearance von Neostigmin und Pyridostigmin renal erfolgt (Cronnelly et al. 1980), verlängert sich bei Nierenversagen ihre Wirkungsdauer.

Dies hat zur Folge, dass durch die enge therapeutische Breite von Achetylcholinesterase Inhibitoren ein unausgewogenes Verhältnis zwischen Relaxans und dem Inhibitor entstehen kann, welches dazu führt, dass entweder eine nicht-depolarisierende residuelle Blockade durch Überhang des Relaxans oder eine depolarisierende Blockade durch Überhang des Inhibitors hervorgerufen werden können.

Bloxiverz, der Hersteller von Neostigmin, empfiehlt daher eine engmaschige Überwachung von Patienten mit Nierenversagen, auch unter Berücksichtigung der verlängerten Halbwertszeit bei anephrischen Patienten (Bloxiverz-prescribing information).

5.2. Leberversagen

Eine terminale Leberinsuffizienz ist mit Aszites und Ödemen assoziiert. Durch das erhöhte Verteilungsvolumen kommt es für nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung zu einer Verlängerung ihrer Eliminationshalbwertszeit (Ward & Weatherley 1986).

Die Elimination von Sugammadex hingegen ist vermutlich unabhängig von der Leberfunktion (Yang & Keam 2009), jedoch wurden bislang nur wenige Studien bei Patienten mit Leberversagen durchgeführt.

Fujita et al. untersuchte eine Gruppe von insgesamt 31 Patienten, von denen 16 eine Leberfunktionsstörung aufwiesen (Fujita et al. 2014). In einer anderen Studie wurden 15 Patienten ohne präoperative Einschränkungen der Leberfunktion untersucht, bei denen eine Hepatektomie durchgeführt wurde (Nonaka et al. 2013).

Beide Studien zeigten einen schnellen Reversierungsprozess durch Sugammadex. Fujita et al. untersuchte die Patienten noch 24 Stunden postoperativ, ohne Zeichen des Wiederauftretens neuromuskulärer Blockaden festzustellen. Auf Grund der geringen Fallzahlen ermahnt die EMA (European Medicines Agency) zu einem vorsichtigen Gebrauch von Sugammadex bei Patienten mit schwerer Beeinträchtigung der Leberfunktion (EMA, product characteristics).

Neostigmin wird von der Leber verstoffwechselt (Bloxiverz-product description), sodass es bei Einschränkungen der Leberfunktion zu einer Akkumulation des Medikamentes im Körper kommen kann. Wie bereits beschrieben können hohe Neostigmin-Dosen bei Patienten mit kompletter Erholung von der neuromuskulären Blockade zu einem depolarisierenden Block (Nair & Hunter 2004) und damit zu respiratorischen Komplikationen führen.

Der Hersteller empfiehlt daher eine sorgfältige Überwachung bei der Verabreichung von Neostigmin bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion.

6. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, die Effektivität von Calabation 2 als Reversierungssubstanz für Muskelrelaxantien in drei unterschiedlichen Versuchsreihen zu untersuchen: in vitro, ex vivo, und in vivo. Als Medikamente zur Reversierung wurden dabei folgende Substanzen verglichen: Calabation 1, Calabation 2, Sugammadex, Neostigmin und Placebo.

Zur Relaxierung kamen Vecuronium, Rocuronium, Cisatracurium und Succinylcholin zum Einsatz.

Das primäre Ziel der in vivo Experimente war der Vergleich der Effektivität von Calabadion 2 versus Placebo und Neostigmin/Glycopyrrolat im Hinblick auf die Reversierung der Effekte des Benzyloquinolins Cisatracurium und der steroidalen Blocker der neuromuskulären Übertragung Vecuronium und Rocuronium. Wir testeten die Hypothese, dass Calabadion 2 die Erholung von einer pharmakologischen, neuromuskulären Blockade dosisabhängig beschleunigt.

Das sekundäre Ziel dieser Arbeit war ein Vergleich der Effektivität von Calabadion 2 und Sugammadex im Hinblick auf die Reversierung der Effekte der steroidalen Blocker der neuromuskulären Übertragung Vecuronium und Rocuronium.

II. Methoden

1. In vitro-Experiment

Eine kooperierende Arbeitsgruppe, geleitet durch Lyle Isaacs in Maryland, führte Experimente zur Bestimmung der relativen Bindungsaffinität durch. Hierfür wurden Calabadion 2 und Sugammadex in eine Lösung gegeben, in der sie um die Bindung mit einer begrenzten Anzahl von Rocuroniummolekülen konkurrierten (pH = 7,4; 25 ° C).

Die Konzentrationen von Calabadion 2 • Rocuronium und Sugammadex • Rocuronium wurden durch ^1H -NMR-Spektroskopie ermittelt (Tabelle 1).

Bei der NMR-Spektroskopie (Nuclear Magnetic Resonance) handelt es sich um eine Methode zur Strukturaufklärung von organischen Molekülen. Moleküle sind nur dann spektroskopiefähig, wenn sie eine Eigenrotation aufweisen, einen sogenannten Kernspin. Bei der NMR-Spektroskopie entstehen Banden, deren Lage über die chemische Umgebung der zugehörigen Wasserstoffatome Aufschluss gibt. Die Feinaufspaltung der Banden gibt an, wieviele andere Wasserstoffkerne in der Umgebung sind. Die ^1H -NMR-Spektroskopie beinhaltet die Spektroskopie von Wasserstoffkernen (Stewart & Catanzaro 2005; Lehmann 2015).

Zur Konzentrationsbestimmung von Calabadion 2 • Rocuronium und Sugammadex • Rocuronium wurden die CH_3 -Gruppen von Rocuronium in den Komplexen im Vergleich zu einem internen Standard bekannter Konzentration bestimmt (0,3 und -0,3 ppm).

Zur Bestimmung der Konzentrationen von Calabadion 2 und Rocuronium in den Urinproben wurde eine andere ^1H -NMR-Analyse verwendet. Hierfür wurden die Urinproben evaporiert, bevor sie anschließend in einem Puffer gelöst wurden.

Die Konzentrationen von Calabadion 2 und Rocuronium wurden durch Messungen der Methylgruppen von Rocuronium im Calabadion 2 • Rocuronium-Komplex bestimmt (zwischen 0,3 und -0,3 ppm bezogen auf einen internen Standard).

Um die Umwandlung von Cisatracurium zu Laudanosin und Pentamethylen-diacrylat durch die Hoffmannelimination in einer Krebs-Henseleit-Pufferlösung ($\text{H}_2\text{C}=\text{CHCO}_2(\text{CH}_2)_5\text{O}_2\text{CCH}=\text{CH}_2$) zu überwachen, wurde eine dritte ^1H -NMR-Analyse vorgenommen. In dieser Analyse wurde die Bildung von Pentamethylen-diacrylat durch Messung der Konzentration an $\text{HC}=\text{CH}_2$ -Gruppen bestimmt. Diese Konzentration wurde in

Relation zur Anfangskonzentration von Cisatracurium (Resonanzgruppe: $(\text{CH}_2)_3$) gestellt, um einen zeitlichen Verlauf des Eliminationsprozesses darzustellen.

	1. ¹ H-NMR-Spektroskopie	2. ¹ H-NMR-Spektroskopie	3. ¹ H-NMR-Spektroskopie
Ziel	Bestimmung der Bindungsaffinität von Calabadion 2 und Sugammadex zu Rocuronium in einer Lösung	Bestimmung der Konzentrationen von Calabadion 2 und Rocuronium in den Urinproben	Überwachung der Umwandlung von Cisatracurium zu Laudanosin und Pentamethylen-diacrylat durch die Hoffmann-elimination
Vorgehen	Zugabe von Calabadion 2 und Sugammadex in eine Lösung mit begrenzter Anzahl von Rocuronium-molekülen	Verdampfung der Urinproben, anschließend Lösung in einem Puffer D ₂ O	Zugabe von Cisatracurium in eine Krebs-Henseleit-Pufferlösung ($\text{H}_2\text{C}=\text{CHCO}_2(\text{CH}_2)_5\text{O}_2\text{CCH}=\text{CH}_2$)
Messmethode	Bestimmung der Konzentration von Komplexen aus Calabadion/ Sugammadex mit Rocuronium durch Messung der Konzentration an Methylgruppen	Messungen der Methylgruppenkonzentrationen von Rocuronium im Calabadion 2 • Rocuronium-Komplex	Bestimmung der Bildung von Pentamethylen-diacrylat durch Messung der Konzentration an $\text{HC}=\text{CH}_2$ -Gruppen in Relation zur Anfangskonzentration von Cisatracurium (Resonanzgruppe: $(\text{CH}_2)_3$)

Tabelle 1: Tabelle 1 stellt die drei durchgeführten ¹H-NMR-Spektroskopien dar.

Zur Bestimmung der Calabadion 2 • Succinylcholin-Konzentration (Tabelle 2) wurde eine, wie durch Ma et al. beschriebene, UV/Vis Konkurrenz-Analyse (Ma, Zhang, et al. 2012) durchgeführt.

Bei der UV/Vis Spektroskopie werden Moleküle mit elektromagnetischen Wellen des ultravioletten und des sichtbaren Lichtes bestrahlt. Entspricht die zugeführte Energie mindestens der Differenz zwischen beiden Energieniveaus, kommt es zu einer Anhebung einzelner Elektronen auf ein höheres Energieniveau. Durch die UV/Vis Spektroskopie können daher nur ungesättigte organische Substanzen nachgewiesen werden. Die Analyse der UV/Vis Spektren erlaubt Aussagen über die Bindungen im Moleküle (Stewart & Catanzaro 2005; Lehmann 2015).

Es wurde eine Lösung aus Calabadion 2 • Rhodamin 6G mit bekannter Bindungsaffinität ($K_a=4,8\pm0,1\times10^5\text{M}^{-1}$) erstellt, welche ein anderes UV/Vis- Spektrum aufweist, als alleiniges Rhodamin 6G.

Bei Zugabe steigender Konzentrationen von Succinylcholin wurde beobachtet, dass das UV/Vis-Spektrum sich dem von freiem Rhodamin 6G annäherte. Dies wurde auf die Verdrängung von Rhodamin 6G aus der Verbindung mit Calabadion 2 durch Succinylcholin zurückgeführt. Die Veränderungen des UV/Vis-Spektrums wurden aufgezeichnet und mit Hilfe eines bereits zuvor verwendeten Modelles ausgewertet (Ma, Zhang, et al. 2012).

	UV/Vis- Spektroskopie
Ziel	Bestimmung der Calabadion2•Succinylcholin Konzentration
Vorgehen	1. Erstellung einer Lösung aus Calabadion2•Rhodamin 6G mit bekannter Bindungsaffinität ($K_a=4,8\pm0,1\times10^5\text{M}^{-1}$) 2. Zugabe steigender Konzentrationen Succinylcholin
Messmethode	Aufzeichnung und Auswertung der Veränderungen des UV/Vis-Spektrums

Tabelle 2: Die *UV/Vis- Spektroskopie* zur Bestimmung der Calabadion 2•Succinylcholin-Konzentration.

2. Ex vivo-Experimente

Durch eine kooperierende Arbeitsgruppe, geleitet durch Manfred Blobner in München, wurden 34 männliche Sprague-Dawley Ratten mit einer Gewichtsspanne von 340-406 g verwendet. Alle tierexperimentellen Experimente wurden durch die Regierung von Oberbayern genehmigt und in den Forschungslaboren des Klinikums Rechts der Isar, München, durchgeführt.

Vor der Dekapitation wurden die Ratten mit Kohlendioxid betäubt. Im Anschluss wurden jeder Ratte zwei Hemidiaphragma Präparate mit intaktem Nervus Phrenicus entnommen. Jedes Diaphragma-Präparat wurde an einer Halterung befestigt und in einem 65 ml Gewebesbad (ISO-07-TSZ2D, Experimetria Ltd., Ungarn) mit Krebs-Henseleit-Puffer-Lösung (1,0 mM KH_2PO_4 , 0,6 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 5,0 mM KCl, 30,0 mM NaHCO_3 , 20,0 mM α -D-Glucose, 118 mM NaCl, 2,5 mM CaCl_2) bei 37 ° C (AMP 09 Temperaturregler, Experimetria Ltd.), 95% O_2 und 5 % CO_2 (Vol%) platziert.

Die Hemidiaphragmen wurden mit einem isometrischen Kraft-Weg-Wandler (FSG-01/200 Kraftaufnehmer, Experimetria Ltd.) am Centrum Tendineum mit einem Crocodile-Clip (AGF1 Crocodileclip, SKS Hirschmann, Deutschland) befestigt. Die Messungen wurden durch das AMP-01-SG Classic Bridge verstärkt und mit der SPEL erweiterten Isosys Software (Experimetria Ltd.) aufgezeichnet.

Eine Vorlast von 10 mN wurde über 20 min appliziert, gefolgt von 50 mN, um Ruhe- und Kraftspitzen während des Experiments zu beurteilen. Der Phrenicuskerv wurde mit einer 2-Hz-TOF-Stimulation alle 15 s (Rechteckimpulse von 0,2 ms Dauer mit einer supramaximalen Spannung) mit einem Rechteck-Stimulator (ST-03-O4, Experimetria Ltd.) angeregt.

Um die Stabilität der Messmethodik nachzuweisen, wurde die Stimulation über 15 min fortgesetzt, bevor weitere Messungen durchgeführt wurden. Dies ist darauf zurückzuführen, dass der Einsatz der Parese durch die Anzahl der applizierten Stimuli vor der Injektion des Relaxans beeinflusst wird. Bei einer Anzahl von bis zu 250 Stimuli steigt die Twitch Antwort mit steigender Anzahl applizierter Stimuli während der repetitiven Nervenstimulation (sogenanntes stair case phenomenon) (G. C. Lee et al. 1997; Krarup 1981).

Die durch Rocuronium und Cisatracurium induzierte Blockade wurde als Abnahme der Amplitude in der ersten Twitchantwort (T1) auf den TOF-Stimulus quantifiziert.

Zur Verringerung der interindividuellen Variabilität bei dem Vergleich der Reversierung von Benzylisoquinolinen und Steroiden durch Calabadion 2 wurde jeweils ein Hemidiaphragma jeder Ratte mit Rocuronium und das andere mit Cisatracurium behandelt.

Rocuronium und Cisatracurium wurden in Schritten von 150 und 100 µg injiziert, bis der T1-Wert sich um mehr als 10 % verglichen mit dem Kontrollwert verringerte. Nach jeder Steigerung der nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung wurde ein stabiler T1-Wert (in drei aufeinanderfolgenden Messungen mit weniger als 3% Abweichung) nach 5-8 min erreicht. Daher wurden die Boli der nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung alle 10 Minuten appliziert.

Auf Grundlage dieser Messungen wurden nachträglich eine 1,5-fache EC99 von Rocuronium (62 µM) und Cisatracurium (16 µM) hinzugefügt, um die Effektivität des Medikamentes zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung zu testen.

Die Erholung der neuromuskulären Übertragung wurde durch die Erholung von T1 und TOF-ratio ermittelt. Die Medikamente zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung wurden alle 10 Minuten bis zur Erholung der TOF-ratio auf 0,9 verabreicht.

Zur Beurteilung der Rocuronium Reversierung, wurde ein initialer Bolus von Sugammadex oder Calabadion 2 (jeweils 5 mg) gegeben, gefolgt von sich wiederholenden Dosen von 0,4 mg. Zur Untersuchung der Cisatracurium Reversierung wurde eine Anfangsdosis von 8 mg Calabadion 2 dem Gewebabad zugegeben, gefolgt von sich wiederholenden Dosen von 1,5 mg.

Um die Auswirkungen der Hoffmannelimination auf die Cisatracuriumkonzentration zu ermitteln, wurden 10 weitere Hemidiaphragmen in ein 6 µM Cisatracurium Bad (EC90) inkubiert. In diesen Präparaten wurde der Twitch jede 10 min gemessen und der erwartete spontane sigmoidale Erholungsverlauf beobachtet. Die Linearisierung durch Logit-Transformation ergab einen mittleren Anstieg der Twitch-Werte um 0,26 jede 10 Minuten. Die Twitch-Antworten wurden entsprechend korrigiert, bevor die einzelnen Beziehungen zwischen Konzentration und Antwort berechnet wurden.

Zur Berücksichtigung des zeitabhängigen Abbaus von Cisatracurium in Laudanosin und Pentamethylen-diacrylat (Hoffmannelimination), wurde die Erhöhung der Konzentration von Pentamethylen-diacrylat berechnet. Die Konzentration von Cisatracurium im Krebs-Henseleit-Puffer (Anfangskonzentration: 3,5 mm, pH = 7,4; 37,5 ° C) wurde wiederholt durch ^1H NMR-Methode alle 10 Minuten für 1 Stunde und dann stündlich über 5 Stunden gemessen. Die Konzentration von Pentametyldiacrylate wurde gemessen. Die Abnahme der Cisatracurium Konzentration betrug $18\% \ln(t [\text{h}]) + 41\%$ (8,3% alle 10 Minuten). Die Cisatracurium Konzentrationen zur Berechnung der Affinität von Calabadiol 2 wurden auf der Grundlage der Messungen der Hoffmannelimination korrigiert.

3. In vivo-Experimente

3.1. Instrumentierung

108 männliche Sprague-Dawley Ratten (281.16 ± 2.72 g) wurden mit Isoflurane (Baxter Healthcare Corporation Deerfield, Illinois, USA; 2-chloro-2-(difluoromethoxy)-1,1,1-trifluoro-ethane), einem halogenisierten Ether, in einer 10x5 cm großen abgedichteten Plastikbox anästhesiert.

Die initiale Isoflurankonzentration bis zum Verlust des Aufrichtreflexes (sogenannter „Righting“-Reflexes) betrug 5 % (in 70 % N_2O und 30 % O_2 gelöst). Der Aufrichtreflex dient als Indikator zur Bestimmung der Anästhesietiefe (Solt et al. 2011; Chemali et al. 2012; Smith 1993). Er beschreibt in verschiedenen Spezies (z.B. Katzen, Ratten, Mäuse, Schweine, Hasen, Primaten) die Fähigkeit, eine normale aufrechte Position wiederzuerlangen, ohne sich an etwas abzustößen, nachdem die normale aufrechte Position zuvor unabsichtlich verloren wurde (z.B. durch das Drehen des Tieres auf den Rücken oder bei einem Sturz) und wird hauptsächlich durch das Vestibularorgan ermöglicht. Für eine sichere Landung müssen sich die Tiere drehen, bis sie eine aufrechte Position erreichen, um Verletzungen durch den Aufprall am Boden oder durch eine Kollision gegen andere Gegenstände im Fall zu vermeiden (Cremieux et al. 1984).

Nach Einleitung der Anästhesie wurden die Tiere in Rückenlage auf einer Heizmatte (CWE Inc., TC 1000 Temperature Controller, USA) positioniert.

Die Anästhesie wurde mit 1,5 % Isofluran aufrecht erhalten.

Die Körpertemperatur wurde mittels einer rektalen Sonde gemessen und auf einer mittleren Temperatur von 37 ± 1 Grad Celsius während des gesamten Experimentes reguliert, um Hypothermie zu vermeiden. Der Blutdruck wurde ebenfalls kontinuierlich während des gesamten Experimentes aufgenommen und Blutgasanalysen wurden 1 Minute vor sowie 10 und 20 Minuten nach Verabreichung des Relaxans durchgeführt. Zum Nachweis des pharmakophysiologischen Effektes wurden Blutproben 1 Minute vor sowie 2, 5, 10, 15, 20 und 60 Minuten nach der Gabe des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung genommen.

3.1.1. Tracheale Kanülierung

Die Tiere wurden tracheotomiert (Abbildung 4), wobei ihre normale Atmung bis zur Injektion des Relaxans möglich blieb. Es wurde ein Längsschnitt der Haut circa 1 cm oberhalb des Manubriums durchgeführt. Das Fettgewebe wurde mittels zwei stumpfer Pinzetten separiert, bevor die longitudinale Muskulatur (Sternohyoid und Longus Colli) entlang der Mittellinie präpariert wurde, um die Trachea darzustellen.

Um eine Schädigung des Nervus Phrenicus zu vermeiden, wurden die Arteriae und Venae thyreoidales inferiores und der Nervus recurrens beidseits stumpf von der Trachea separiert, bevor ein 4-0 Faden unter der Trachea durchgeleitet wurde. Im Anschluss wurde die Trachea horizontal 2 oder 3 Trachealringe unterhalb des thyreoidalen Isthmus und 1 Trachealring kranial der Fadenschlaufe eingeschnitten. Ein zusätzlicher kranialer Längsschnitt der Trachea ermöglichte das Einführen eines Röhrchens (Plastikröhrchen einer Vigo 20G), welches circa 1 cm kaudal in die Trachea vorgeschoben wurde.

Nach korrekter Positionierung wurde die Schlaufe festgezogen und damit das Plastikröhrchen fixiert. Im Anschluss wurde die Wunde zugenäht.

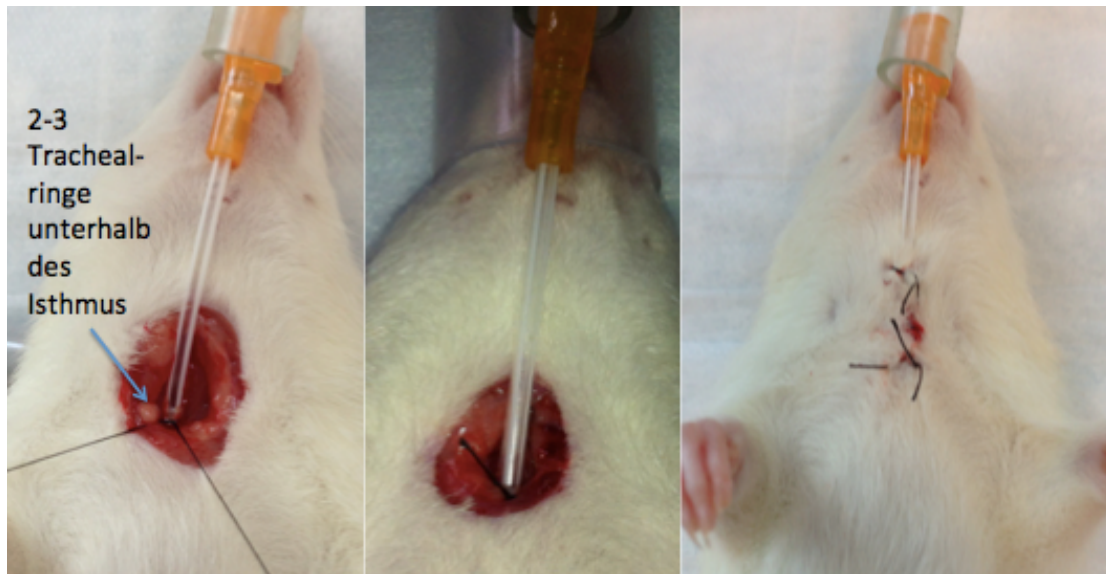


Abbildung 4: Die Abbildung zeigt *die einzelnen Schritte der trachealen Kanülierung*. Zunächst wurde ein circa 1 cm langer kutaner Längsschnitt etwa 1,5 cm unterhalb des Unterkiefers durchgeführt. Das subkutane Fettgewebe und die einzelnen Muskelschichten wurden ohne Verletzungen umliegender Nerven und Gefäße stumpf zur Seite präpariert. Die Trachea wurde im Anschluss mit einer stumpfen Pinzette gelockert und mit einem Faden umschlungen (1). Dann erfolgte eine Inzision von einem halben Durchmesser Tiefe, durch die der Tubus ca. 1 cm weit in die Trachea eingeführt werden konnte (2). Der Tubus wurde schließlich mit einer Schlaufe fixiert (3).

3.1.2. Gefäß -Kanülierung

Circa 10 Minuten nach der Anästhesieeinleitung begann die Kanülierung der Gefäße (Abbildung 5). Diese wurde durchgeführt, um eine kontrollierte Einleitung sowohl des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung, als auch des Reversals, bzw. Placebo, über die linke Vena femoralis zu ermöglichen. Die Kanülierung der linken Arteria femoralis diente zur Erleichterung einer regelmäßigen Blutabnahme und der kontinuierlichen Messung des Blutdruckes.

Der Eingriff begann mit einem circa 1.5 cm langen ventralen Hautschnitt entlang der Falte, die sich zwischen Abdomen und Hüfte bildet. Subkutanes Fettgewebe wurde mit zwei stumpfen Pinzetten geteilt. Anschließend wurden der Musculus Gracilis caudatus und der Musculus Gracilis cranialis stumpf disseziert und mittels eines Fadens zur Seite gehalten, um den Nervus Saphenus sowie die Arteria und Vena Femoralis freizulegen.

Die Arteria und Vena Femoralis sind durch perivaskuläres Gewebe miteinander verwachsen, wobei der Nervus Saphenus im perivaskulären Gewebe auf der arteriellen Seite eingelagert ist.

Dieses Gewebe wurde vorsichtig mit einer Pinzette eröffnet, ohne dabei den Nervus Saphenus zu beschädigen, um eine Paralyse zu vermeiden. Die Gefäße wurden bis circa 5 mm distal des Ligamentum Inguinale freigelegt und mit jeweils zwei 6-0 Fäden umschlungen.

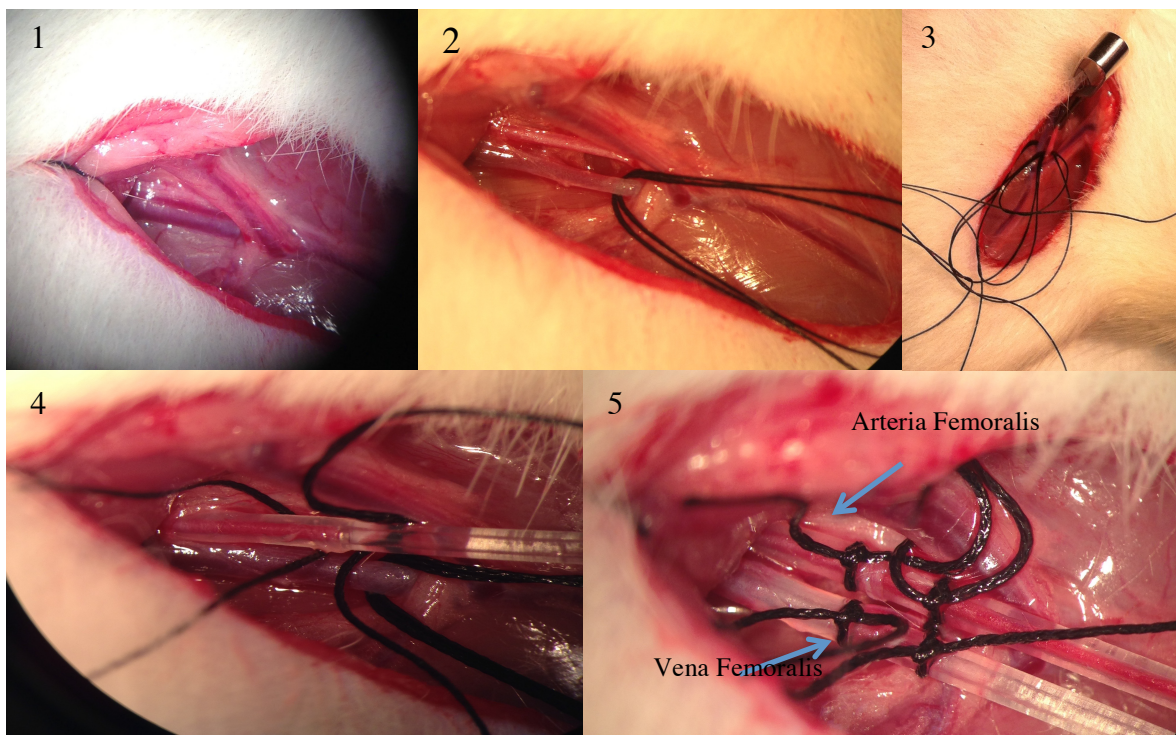


Abbildung 5: Die Abbildung zeigt den *Ablauf der Gefäß – Kanülierung*. Nach einem circa 1,5 cm langen ventralen, inguinalen Hautschnitt entlang der Falte zwischen Abdomen und Hüfte wurden das subkutane Fettgewebe, der Musculus Gracilis caudatus und der Musculus Gracilis cranialis mit zwei stumpfen Pinzetten geteilt und zur Seite geschoben, bis der Blick auf den Nervus Saphenus sowie die Arteria und Vena Femoralis möglich war (1). Das perivaskuläre Gewebe um die Gefäße wurde unter Schonung des Nervus Saphenus vorsichtig mit einer Pinzette entfernt, sodass die Gefäße mit Fäden umschlungen werden konnten (2). Der arterielle Blutfluss wurde mit einem Clip unterbunden (3). Nach einer kleinen Inzision in die Gefäße konnte ein dünner Polyethylenschlauch vorgeschoben (4) und mit den Fäden fixiert werden (5).

Kanülierung der Arteria Femoralis

Der distale Faden wurde vorsichtig gestrafft, um den Rückfluss des Blutes aus dem Bein zu unterbinden. Der proximale Faden bildete weiterhin eine lockere Schlaufe um die Arterie. Eine Gefäßklemme wurde weit proximal angebracht (Abbildung 5, 3. Bild), um während der Kanülierung den arteriellen Blutzufluss zu unterbinden. Daraufhin wurde von ventral ein kleiner Schnitt in der Arterie von etwa der Hälfte des Gefäßdurchmessers zwischen beiden Schlaufen vorgenommen. Durch diese Öffnung wurde ein Polyethylenschlauch, der zuvor zur Vermeidung einer Koagulation und konsekutiver Obstruktion im Schlauch mit einer NaCl Lösung sowie Heparin (300 I.E. Heparin und 500 ml 0,9 % NaCl) gespült wurde, eingeführt. Mit Öffnung des Clips wurde der Schlauch langsam vorgeschoben und passierte die Schlaufe. Die korrekte Position des Schlauches war erreicht, wenn das Pulsieren einer Blutsäule sichtbar wurde (Abbildung 4, 4. Bild). Dann wurde die lose Schlaufe um Katheter und Arterie verschlossen und fixiert (Abbildung 5, 5. Bild).

Kanülierung der Vena Femoralis

Die Kanülierung der Vena Femoralis erfolgte auf ähnliche Weise, mit Ausnahme der Anbringung eines Clips. Der Schlauch wurde ebenfalls mit einer NaCl/Heparin Mischung gefüllt, um eine Gerinnung bis zur Injektion des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung zu verhindern. Eine korrekte Position des Schlauches lag dann vor, wenn NaCl injiziert werden konnte, ohne, dass sich ein Bolus bildete oder Flüssigkeit paravaskulär gelangte.

Zuletzt wurde die Wunde mit einer Naht verschlossen, um ein Austrocknen zu verhindern.

3.1.3. Urinproben

60 Minuten nach der Injektion von Calabadiol 2 wurde die Blase punktiert. Das vollständige Volumen des in der Blase befindlichen Urins wurde entnommen, quantifiziert und für spätere ^1H NMR-Assay Untersuchungen konserviert.

3.1.4. Bestimmung der neuromuskulären Übertragung

Zur Bestimmung der neuromuskulären Übertragung wurde der Nervus Femoralis mit zwei subkutanen Nadel-Elektroden supra-maximal stimuliert. Die ausgelöste Antwort des Musculus quadriceps femoris wurde mittels eines Beschleunigungsmessers über einen TOF-Watch SX Monitor (Organon Ireland Ltd, a part of Schering-Plough Corporation, Dublin, Ireland) bestimmt.

Der Beschleunigungssensor wurde ventro-medial proximal am Ende der Hüfte im Bereich der Tuberositas Tibiae subkutan eingebracht. Nach der Bestimmung der supramaximalen Stimulation wurde der Nervus Femoralis kontinuierlich mit 1 Hz (1/Sekunde) stimuliert, bis die Twitch-Höhe ein stabiles Plateau erreichte.

Im Anschluss wurde der TOF-Watch SX[®] monitor kalibriert (Kalibrations-Modus 1). Die Injektion der Medikamente erfolgte erst nach mindestens 10 minütiger Stimulation.

Nach der Erholung des Twitch auf Werte über 50 % der Baseline wurde der Stimulationsmodus auf die TOF-Stimulation mit 12 Sekunden Intervallen geändert, um auch geringe Level der neuromuskulären Blockade zu erfassen. Das TOF-Monitoring wurde bis 20 Minuten nach der Injektion des Medikamentes zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung fortgeführt.

3.1.5. Medikamente

Rocuronium 3.5 mg/kg (2-fache ED₉₀), Vecuronium 0,7 mg/kg (2-fache ED₉₀), Cisatracurium 0,6 mg/kg (2-fache ED₉₀), Succinylcholine 0,9 mg/kg (2-fache ED₉₀), Neostigmin/Glycopyrrolat 0,06/0,012 mg/kg und Sugammadex wurden in Wasser (0,5 ml) gelöst. Sugammadex wurde zur Verbesserung der Löslichkeit zusätzlich erwärmt. Calabadiol 1 und 2 sind im Labor von Lyle Isaacs nach dem bereits publizierten Verfahren synthetisiert worden (Da Ma et al. 2014). Alle Medikamente (Tabelle 3) wurden über eine Zeitspanne von 5 Sekunden injiziert. Isofluran (Flurane; Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL), Cisatracurium (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL), Rocuronium (Zemuron, Organon, NJ), Vecuronium (Novaplus, Irving, TX), Succinylcholin (Hospira, Inc., Lake Forest, IL) und Neostigmin/Glycopyrrolat (West-Ward, Eatontown, NJ) wurden über klinische Zulieferer erworben. Sugammadex (Merck, White House Station, NJ) wurde importiert.

Tabelle 3: Dosierungen der einzelnen Medikamente

Muskel-relaxantien	Calabadion 1	Calabadion 2	Sugammadex	Neostigmin/ Glycopyrrolat	Placebo
3,5 mg/kg Rocuronium	-	5, 10, 25	5, 10, 25	0,06/0,012	0,5
0,7 mg/kg Vecuronium	10, 20, 30	2, 5, 10	5, 10, 25	0,06/0,012	0,5
0,6 mg/kg Cisatracurium	-	40, 60, 80	-	0,06/0,012	0,5
0,9 mg/kg Succinylcholin	40	10	-	-	-

3.2. Experimentelles Protokoll

3.2.1. Protokoll zur Reversierung einer einfachen neuromuskulären Blockade

Um die dosisabhängigen Auswirkungen der einzelnen Medikamente zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung miteinander vergleichen zu können, wurde die Zeit bis zur Erholung der neuromuskulären Übertragung nach Gabe von Rocuronium, Vecuronium und Cisatracurium gemessen.

Sofort nach Aussetzen der Atmung setzte eine maschinelle Beatmung ein. 30 Sekunden nach diesem Zeitpunkt folgte die Injektion des Test-Medikamentes (Placebo = 0,9 % NaCl oder Calabadion 1 vs. Calabadion 2 vs. Sugammadex vs. Neostigmin/Glycopyrrolat) (Abbildung 6).

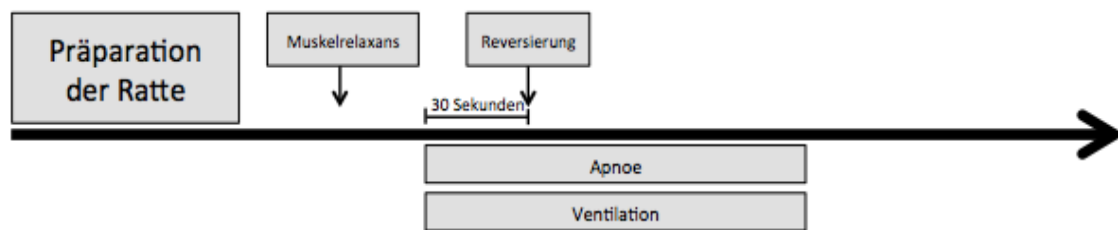


Abbildung 6: *Standardprotokoll zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung:* Nach erfolgter Anaesthetie der Tiere wurde eine Tracheotomie mit anschliessender Kanülierung der Arteria und Vena femoralis durchgeführt. Zuletzt wurde die TOF-Watch installiert. Danach verabreichten wir einen nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung und es kam zum Aussetzen der Spontanatmung. Es erfolgte eine mechanische Ventilation. 30 Sekunden nach Aussetzen der Atmung verabreichten wir ein Medikament zur Reversierung/Placebo und maßen die Zeit bis zur Erholung von Atmung und TOF.

3.2.2. Protokoll zur Möglichkeit einer Re-Relaxierung nach abgeschlossener Reversierung

Zur Evaluierung einer zweiten Relaxierung nach bereits stattgehabter Reversierung von Vecuronium mit Calabation 2 wurde Succinylcholin 60 Sekunden nach Wiederauftreten einer spontanen Atmung verabreicht (Abbildung 7). 4 Ratten erhielten lediglich Succinylcholin, um Vergleichszeiten für Beginn und Dauer der Relaxierung zu erhalten.

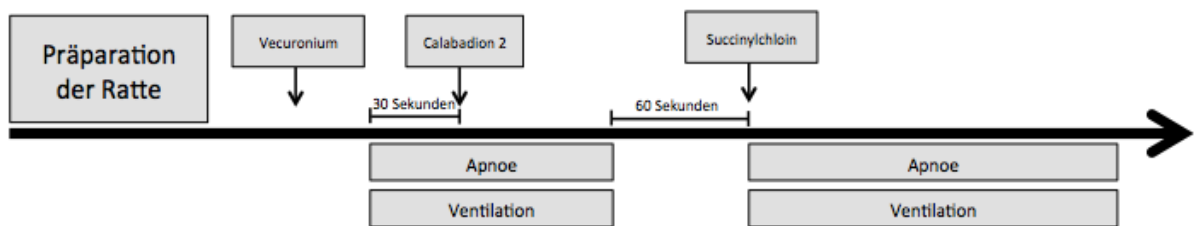


Abbildung 7: *Protokoll zur Re-Relaxierung nach Calabadion 2-Reversierung.*

Nach der Tier-Präparation erfolgte eine Relaxierung mit Vecuronium. 30 Sekunden nach Aussetzen der Atmung erfolgte eine Reversierung mit Calabadion 2. 60 Sekunden nach Wiedereinsetzen der Atmung wurde Succinylcholin injiziert und die Zeit bis zur Erholung von TOF und Atmung gemessen.

3.3. Datenanalyse

Die Datenauswertung erfolgte über eine LabChart Software Version 7. In einer Echtzeitaufnahme wurden systolischer und diastolischer Blutdruck sowie die Herzfrequenz aufgenommen. Der Mean arterial blood-pressure (MAP=mittlerer arterieller Blutdruck) und die Herzfrequenz wurden vor Gabe des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung, vor Reversal-Gabe sowie 2, 5, 10 und 20 Minuten nach Reversal-Gabe berechnet.

3.4. Statistische Analysen

Das primäre Ziel der in vivo Experimente war der Vergleich der Effektivität von Calabadion 2 bei der Reversierung von Benzylisoquinolinen und steroidal nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung zu Calabadion 1, Neostigmin/Glycopyrrolat und Placebo.

Das sekundäre Ziel dieser Arbeit war ein Vergleich der Effektivität von Calabadion 2 bei der Reversierung steroidal Relaxantien mit Sugammadex.

Die primäre Ergebnis-Variable war die gemessene Zeit von der Injektion des Medikamentes zur Reversierung nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung bis zur Erholung von der neuromuskulären Blockade, die als Wiedererlangung der Atmung und als Erreichen eines TOF von mindestens 90 % definiert wurde.

Zur Analyse des primären Zieles wurde die Hypothese getestet, dass Calabadion 2 die Erholung von durch nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung induzierte Blockaden dosisabhängig beschleunigt. Dies wurde im Vergleich zu Calabadion 1, Sugammadex, Neostigmin/Glycopyrrolat und Placebo untersucht.

Als statistischen Test wählten wir das "Gemischte Lineares Model" bzw. „Linear Mixed Model“ vom zusammengesetzt symmetrischen Kovarianztyp (compound symmetry repeated covariance type). Als abhängige Variablen wurden alle Messdaten der Zeit in einem „Mixed Model“ (compound symmetry repeated covariance type) bis zur Erholung der Atmung oder des TOF bestimmt. Zur Evaluierung der Auswirkungen auf die Zeit bis zur Erholung wurden das Relaxans (Vecuronium, Rocuronium oder Cisatracurium), das Medikament zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung (Calabadion 2, Calabadion 1, Neostigmin/Glycopyrrolat oder Placebo), dessen Dosierung (mg/kg) und die gemessene Muskelgruppe (Atmung/TOF) als sich wiederholende Variablen festgelegt. Es wurde eine Interaktion zwischen dem verabreichten Medikament zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung und der Steigung von dessen Dosierung untersucht.

Für das erste Ziel wurden alle Zeiten zur Erholung von TOF und Atmung (sich wiederholende unabhängige Variablen) eingeschlossen und der Effekt beider Medikamente zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung (Calabadion 2/Sugammadex) auf die abhängige Variable Zeit bis zur Erholung einschließlich des Relaxans (Vecuronium/Rocuronium) und der Dosierung des Medikamentes zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung getestet. Es wurde auf eine Interaktion zwischen dem verabreichten Medikament zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung und der erforderlichen Dosis getestet.

Zur Beurteilung des zweiten Ziels wurde die Hypothese aufgestellt, dass Calabadion 2 steroidale nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung potenter reversiert als Sugammadex. Gleich der Beurteilung des ersten Zieles wurden alle Messdaten der Zeit bis zur Erholung von Spontanatmung und TOF-ratio in einem „Linear Mixed Model“ (compound symmetry repeated covariance type) untersucht. Hierfür wurden die Effekte beider Medikamente zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden auf die abhängige Variable Zeit bis zur Erholung nach neuromuskulärer Blockade einschließlich des Relaxans (Vecuronium oder Rocuronium) und der Dosierung des Medikamentes zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden ausgerichtet auf das molekulare Gewicht (1.641 g/mol für Calabadion 2 vs. 2.178 g/mol für Sugammadex) und in Bezug auf die unabhängigen Variablen Spontanatmung und TOF-ratio untersucht.

In den ex vivo Experimenten wurde die Twitch Antwort als der Unterschied zwischen der Rückstellkraft und der Spitzenkraft definiert. Unter der Annahme, dass das Verhältnis zwischen der Konzentration des Blockers der neuromuskulären Übertragung und des Medikamentes zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden zur TOF-ratio durch eine hillische Differentialgleichung bestimmt wird, wurde für jedes Präparat eine lineare Regression der TOF-ratio in einer Logit-Skala erstellt und die Konzentrationen in einer natürlichen Log-Skala dargestellt. Die überführten Variablen der individuellen linearen Regression wurden durch eine Analyse der Covarianten für wiederholte Messungen entweder durch Verwendung des Relaxans oder des Medikamentes zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden oder einer Regressionsvariable als unabhängige Faktoren untersucht. Die Konzentrations-Wirkungs-Beziehung wird durch die Steigung und den Achsenschnittpunkt sowie durch die effektive Konzentration für einen Effekt von 50 % (EC50) beschrieben.

Die Daten werden als Mittelwerte \pm SD angegeben, soweit nicht anders spezifiziert. Die statistischen Analysen wurden mit SPSS 20,0 (SPSS Inc., Chicago, IL) durchgeführt.

3.5. Toxikologie

Zur Ermittlung des Effektes von Calabadion auf die Gerinnung und die Laborwerte von Leber und Niere wurde den Ratten 1000 mg Calabadion 2 pro kg Körpergewicht oder NaCl intraperitoneal in den unteren rechten Quadranten injiziert.

Calabadion 2 (1000 mg/kg) oder NaCl (Placebo) wurden in eine 3 ml Spritze gefüllt. Calabadion wird als Puder gelagert und muss für eine komplette Lösung mit erwärmtem H₂O vermischt werden.

Zu Beginn des Eingriffs wurde das Tier durch einen Helfer zwischen Mittel- und Zeigefinger nach dorsal extendiert, um die intraperitoneale Injektion zu ermöglichen.

Die Injektion wurde im unteren rechten Quadranten mit einem Einstichwinkel von 30-40 Grad vollzogen. Nach dem Einstich mit einer Nadel von 27 Gauge wurde kurzzeitig ein leichter Unterdruck erzeugt, um eine Fehlinjektion, beispielsweise in den Darm oder ein Gefäß, zu verhindern. Anschließend wurde der Inhalt injiziert. Das Blut der Tiere wurde bis zu 18 Tage nach der Injektion entnommen und analysiert.

III. Ergebnisse

1. Ergebnisse der in Vitro-Experimente

Die Resonanzen für die steroidal CH₃ Gruppen wurden für die Komplexe Calabadion 2 • Rocuronium (0,3 bzw. -0,3 ppm) und Sugammadex • Rocuronium (1,0 ppm) an unterschiedlichen Positionen gefunden. Die steroidal CH₃-Gruppen erschienen sogar dann als separate Resonanzen, wenn Calabadion 2 und Sugammadex in einer Lösung um Rocuronium konkurrierten.

Diese Beobachtung ermöglichte es, die Konzentrationen von Calabadion 2 • Rocuronium und Sugammadex • Rocuronium in einer Gleichgewichtslösung zu bestimmen.

Es wurde berechnet, dass Calabadion 2 89-mal stärker an Rocuronium bindet, als Sugammadex. Mit dem bekannten K_a-Wert für den Calabadion 2 • Rocuronium Komplex (K_a = 3,4 × 10⁹ M⁻¹), konnte der K_a-Wert für Sugammadex • Rocuronium (K_a = 3,8 × 10⁷ M⁻¹) bestimmt werden.

Der Vergleich des K_a-Wertes für Calabadion 2 • Rocuronium mit dem von Sugammadex • Rocuronium, unter Verwendung der gleichen Methode (¹H-NMR-Assay), demonstriert, dass Calabadion 2 eine wesentlich höhere Bindungsaffinität gegenüber Rocuronium aufweist als Sugammadex (K_a-Werte: Calabadion2 • Rocuronium = 3,4 × 10⁹ M⁻¹ vs. Sugammadex • Rocuronium: 3,8 × 10⁷ M⁻¹).

Durch Verwendung der Massenbilanz ([Rocuronium] insgesamt = 199,8 μM = [Calabadion 2 • Rocuronium] + [Sugammadex • Rocuronium]) konnte die Konzentration der Komplexe Calabadion 2 • Rocuronium (136,1 μM) und Sugammadex • Rocuronium (63,7 μM) berechnet werden. Unter der Annahme eines geschlossenen Systems (keine Moleküle konnten die Systemgrenze überschreiten) wurde die Konzentration von freiem Calabadion 2 (50,7 μM) und Sugammadex (2336 μM) auf Basis der spektralen Analyse ihrer Komplexe mit Rocuronium berechnet.

Die relative Bindungskonstante (K_{rel} = ([Calabadion 2 • Rocuronium] [Sugammadex]_{frei}) / ([Sugammadex • Rocuronium] [Calabadion 2]_{frei})) wurde als K_{rel} = 98,4 bestimmt. In einer

Lösung mit 186,8 μM Calabadion 2, 199,8 μM Rocuronium und 4.7993 μM Sugammadex war die relative Bindungskonstante beider Substanzen vergleichbar ($K_{\text{rel}} = 81,45$).

Die Bindungsaffinität für Calabadion 2 • Succinylcholin wurde durch Messung der Veränderungen in der UV/Vis-Absorption und durch deren Eingliederung in ein Standardmodell (Ma, Zhang, et al. 2012) bestimmt ($2,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$).

2. Ergebnisse der ex Vivo-Experimente

Rocuronium (12 μM =EC50) und Cisatracurium (3 μM =EC50) führten zu einer dosisabhängige Abnahme der Twitch Höhe. Die EC50 von Calabadion 2 und Sugammadex bei der Reversierung von Rocuronium ($1,5 \times \text{EC99}$) waren in der gleichen Größenordnung (TOF: 61 vs. 49 μM und T1: 53 vs. 43 μM), was darauf hindeutet, dass Calabadion 2 und Sugammadex ein 1:1 Bindungsverhältnis mit dem nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung eingehen. Bei der Reversierung von Cisatracurium wurde die EC50 bei einer Konzentration von 80 μM bei Beurteilung durch T1 und bei einer Konzentration von 100 μM bei Verwendung der TOF-ratio ermittelt. Es wurde keine Reversierung einer Cisatracurium induzierten neuromuskulären Blockade durch Sugammadex bei Verwendung von Calabadion-Konzentrationen bis 1000 μM gefunden.

3. Ergebnisse der in Vivo-Experimente

3.1. Reversierung steroidal nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung

3.1.1. Reversierung von Vecuronium

Für die Reversierung von Vecuronium (Abbildung 8,9) betrug die Zeit bis zum Erreichen des TOF $0,9\ 378 \pm 36$ Sekunden in der Placebogruppe und 215 ± 24 Sekunden in der Neostigmin/Glycopyrrolatgruppe ($p < 0,01$). Diese Zeit wurde von allen Dosen des verabreichten Calabadion 1, Calabadion 2 und Sugammadex unterschritten ($p < 0,001$). Die Zeit bis zum Wiedereinsetzen der Atmung betrug 220 ± 22 Sekunden nach der Gabe von Placebo und 150 ± 5 Sekunden nach Verabreichung von Neostigmin/Glycopyrrolat ($p < 0,05$). Auch diese Zeiten waren signifikant länger als nach Injektionen aller drei Dosen von Calabadion 2 verglichen mit Calabadion 1 ($p < 0,001$), ($p < 0,01$). Die Mittelwerte

zwischen Sugammadex und Calabation 2 erwiesen sich als als nicht signifikant unterschiedlich für das Erreichen des TOF 0,9 ($p = 0,116$), während die Wiedererlangung der Atmung bei Calabation 2 signifikant schneller erfolgte ($p < 0,01$).

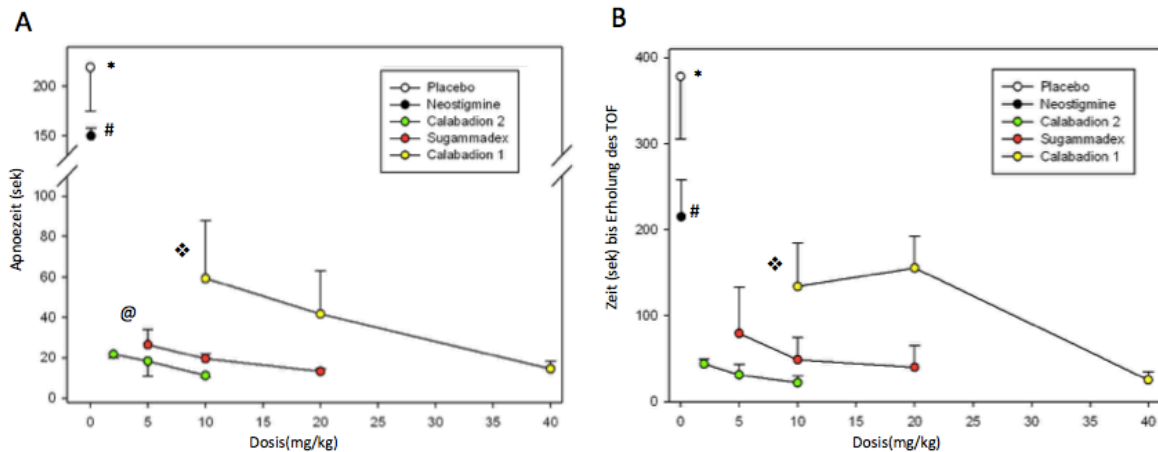


Abbildung 8: Wiedereinsetzen der Spontanatmung (A) und Erholung der train-of-four (TOF) ratio auf 0,9 (B) nach der Gabe einer 2 fachen ED 90 von Vecuronium (0,7mg/kg). Mittelwerte und SD von 44 Ratten.

(A) Wiedereinsetzen der Atmung. Calabation 2 beschleunigt die Zeit zum Wiedereinsetzen der Spontanatmung signifikant verglichen mit Placebo (* $p < 0,001$), Neostigmin (# $p < 0,001$), Calabation 1 (❖ $p < 0,01$) und Sugammadex (@ $p < 0,01$).

(B) TOF 0,9. Calabation 2 senkt die Zeit zur Erholung des TOF signifikant im Vergleich zu Placebo (* $p < 0,001$), Neostigmin (# $p < 0,001$) und Calabation 1 (❖ $p < 0,001$).

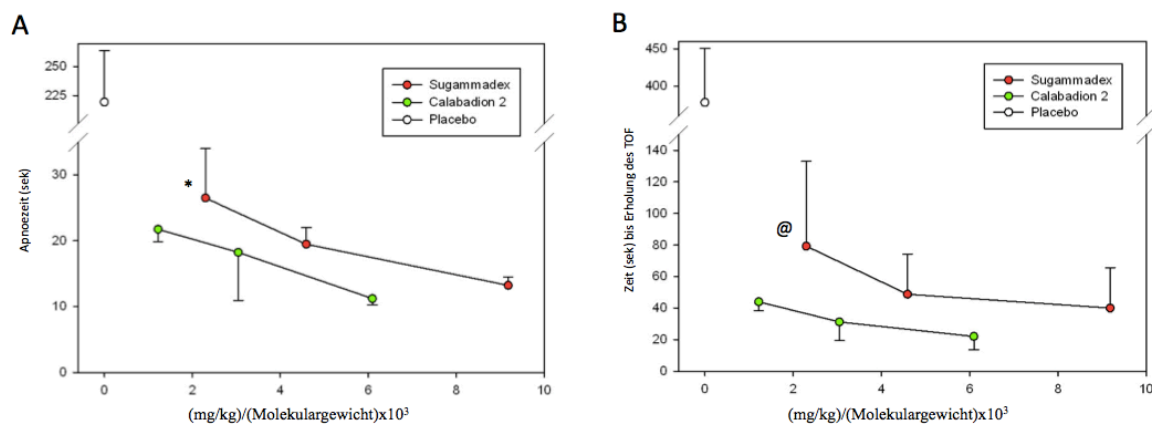


Abbildung 9: Wiedereinsetzen der Spontanatmung (A) und Erholung der train-of-four (TOF) ratio auf 0,9 (B) nach der Gabe einer 2 fachen ED 90 von Vecuronium. Mittelwerte und SD von 28 Ratten; Die x-Achse wurde normalisiert, um die Unterschiede im Molekulargewicht von Sugammadex und Calabadiion 2 auszugleichen.

3.1.2. Reversierung von Rocuronium

Ähnlich, wie bei der Reversierung von Vecuronium, konnten Calabadiion 2 und Sugammadex eine durch Rocuronium induzierte Blockade dosisabhängig vollständig reversieren ($p < 0,001$) (Abbildung 10).

Die Erreichung des TOF 0,9 trat nach 506 ± 32 Sekunden in der Placebogruppe und nach 398 ± 51 Sekunden in der Neostigmin/Glycopyrrolatgruppe ein ($p = 0,124$). Calabadiion 2 und Sugammadex reduzierten die Erholungszeiten signifikant bei allen drei Dosierungen im Vergleich zu Placebo ($p < 0,001$). Das Erreichen des TOF 0,9 nach der Injektion von Calabadiion 2 war signifikant schneller als nach Sugammadexgabe ($p < 0,001$). Die Wiedererlangung der Spontanatmung wurde 370 ± 9 Sekunden nach Placeboinjektion und 229 ± 27 Sekunden nach Neostigmin/Glycopyrrolatgabe ($p < 0,01$) beobachtet. Sowohl Calabadiion 2, als auch Sugammadex reversierten signifikant schneller ($p < 0,001$).

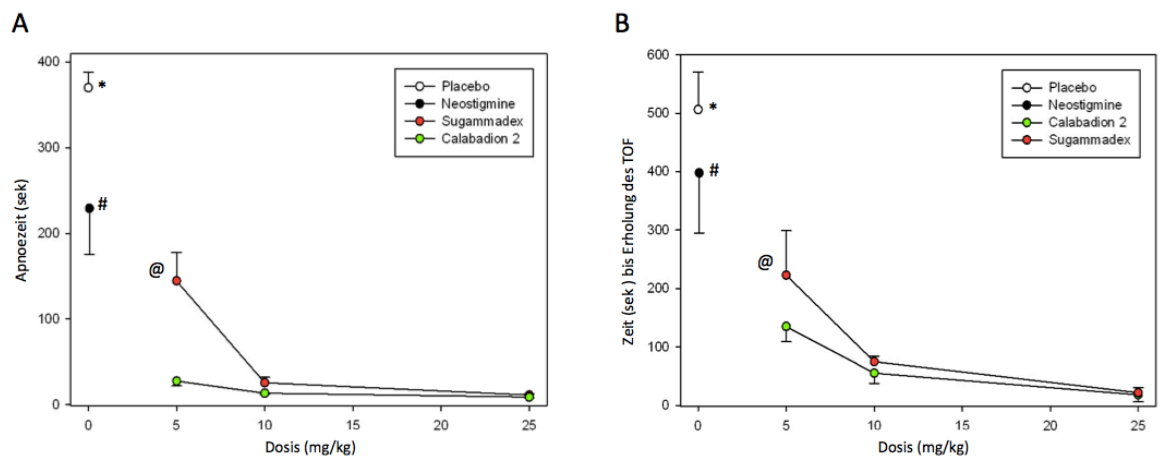


Abbildung 10: Erholung der Spontanatmung und der train-of-four (TOF) ratio auf 0,9 nach der Verabreichung der 2 fachen ED 90 von Rocuronium (3,5 mg/kg). Mittelwerte und SD von 32 Ratten.

(A) Wiedereinsetzen der Atmung. Calabadiol 2 beschleunigt die Zeit zum Wiedereinsetzen der Spontanatmung signifikant verglichen mit Placebo (* $p < 0,001$), Neostigmin (# $p < 0,001$) und Sugammadex (@ $p < 0,001$).

(B) TOF 0,9. Calabadiol 2 senkt die Zeit zur Erholung des TOF signifikant im Vergleich zu Placebo (* $p < 0,001$), Neostigmin (# $p < 0,001$) und Sugammadex (@ $p < 0,001$).

3.2. Reversierung von Benzylisoquinolinen

Das Erreichen eines TOF 0,9 nach Cisatracurium-induzierter neuromuskulärer Blockade wurde bei Placeboinjektion nach 680 ± 154 Sekunden und bei Neostigmin/Glycopyrrolatgabe nach 474 ± 99 Sekunden gemessen ($p = 0,303$). Alle drei Dosierungen von Calabadiol 2 führten zu einer schnelleren Reversierung verglichen mit Placebo ($p < 0,05$). Eine Spontanatmung wurde für Placebo nach 465 ± 98 Sekunden und für Neostigmin/Glycopyrrolat nach 291 ± 50 Sekunden erreicht ($p = 0,164$). Im Vergleich zu Placebo war die Reversierung erneut bei allen gewählten Dosierungen von Calabadiol 2 schneller ($p < 0,001$), (Abbildung 11).

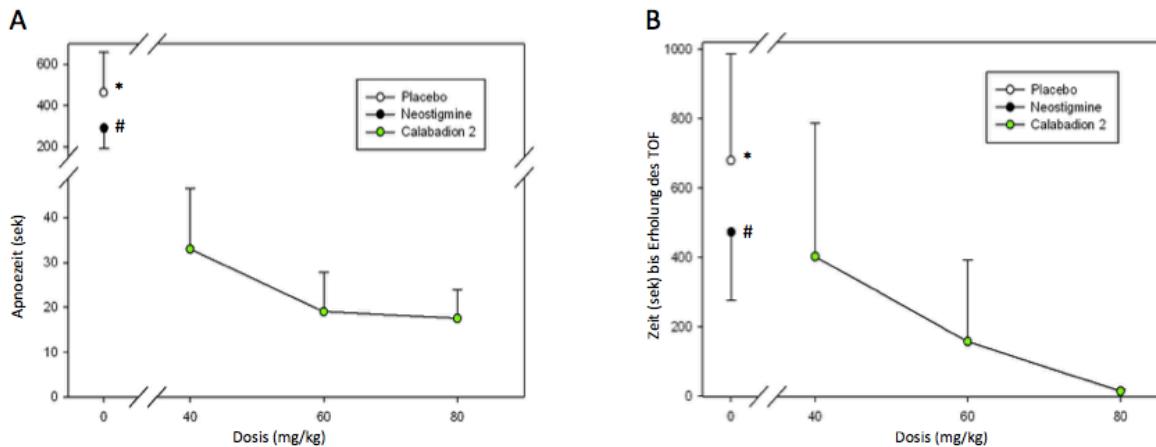


Abbildung 11: Erholung der Spontanatmung und der train-of-four (TOF) ratio auf 0,9 nach der Verabreichung der 2 fachen ED 90 von Cisatracurium (0,6 mg/kg). Mittelwerte und SD von 20 Ratten.

(A) Wiedereinsetzen der Atmung. Calabadiol 2 verringerte die Zeit zum Wiedereinsetzen der Spontanatmung signifikant verglichen mit Placebo (* $p < 0,001$) und Neostigmin (# $p < 0,001$).

(B) TOF 0,9. Calabadiol 2 verkürzte die Zeit zur Erholung des TOF signifikant im Vergleich zu Placebo (* $p < 0,05$) und Neostigmin (# $p < 0,05$).

3.3. Effekte von Succinylcholin nach vorheriger Reversierung einer Vecuronium-induzierten neuromuskulären Blockade

Das Aussetzen der Spontanatmung nach Gabe von Succinylcholin wurde nach $9,8 \pm 0,25$ Sekunden festgestellt, während der Abfall des Twitch unter 0,5 nach $9 \pm 0,8$ Sekunden gemessen wurde. Die Fähigkeit von Succinylcholin, eine Relaxierung herbeizuführen, wurde nicht signifikant beeinträchtigt, sogar wenn die Tiere zuvor mit Vecuronium und Calabadiol 1 ($10,25 \pm 0,95$ Sekunden und $13 \pm 2,8$ Sekunden) oder Calabadiol 2 ($10,25 \pm 0,75$ Sekunden und $10,25 \pm 0,75$ Sekunden) zur Reversierung behandelt wurden (Abbildung 12).

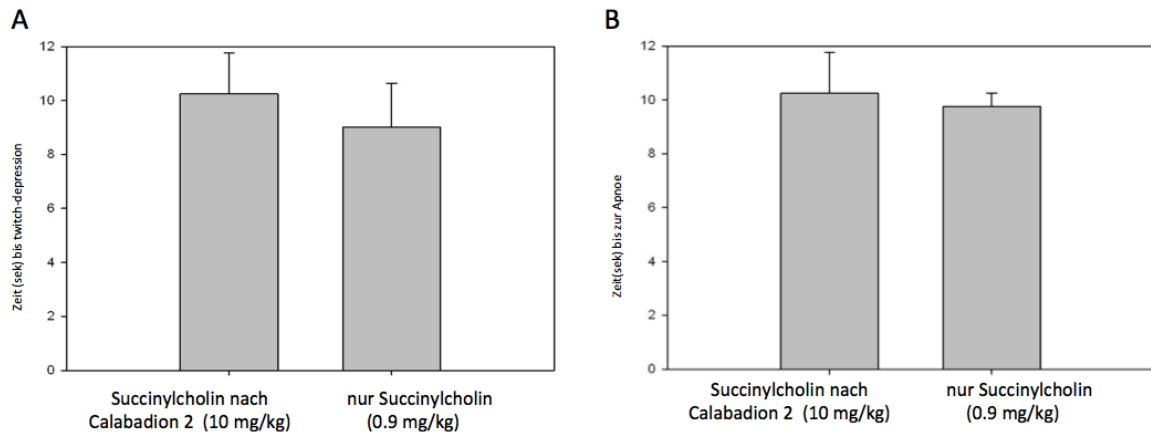


Abbildung 12: Succinylcholin (0,9 mg/kg; 2 fache ED90)-induzierte neuromuskuläre Blockade ohne Vorbehandlung mit Calabadiol 2 und im Anschluss an eine Reversierung von Vecuronium (0,7 mg/kg)-induzierter neuromuskulärer Blockade mit Calabadiol 2. Mittelwerte und SD von 12 Ratten.

(A) Twitch-Abfall. Eine vorausgehende Reversierung mit Calabadiol 2 (10 mg/kg) beeinflusste das Zeitintervall bis zum Erreichen einer zweiten Relaxierung indiziert durch einen Twitch-Abfall < 0,5 nicht signifikant.

(B) Aussetzen der Atmung. Eine vorausgegangene Reversierung mit Calabadiol 2 (10 mg/kg) führte zu keiner signifikanten Beeinflussung der Zeit bis zum Erreichen einer zweiten Relaxierung indiziert durch den Ausfall der Spontanatmung.

3.4. Nebenwirkungen

Calabadiol 2 führte zu keiner signifikanten Änderung von Herzfrequenz, Blutdruck oder der Blutgase (Tabelle 4). Es wurden im Beobachtungszeitraum keine Anzeichen für eine sogenannte Re-curarisation festgestellt. Die TOF-Werte und die Atemfrequenz waren stabil in der Überwachungsperiode von mindestens 20 Minuten nach Verabreichung von Calabadiol 2.

Tabelle 4: Die Auswirkungen von Calabadion auf die arteriellen Blutgase

Calabadion	Vor der Injektion von Calabadion 2			10 Minuten nach Calabadion 2			20 Minuten nach Calabadion 2		
Dosis, mg/kg	pO ₂	pCO ₂	pH	pO ₂	pCO ₂	pH	pO ₂	pCO ₂	pH
0	128.33 ±3.36	38.40 ± 5.10	7.44 ± 0,04	128.88 ±6.99	40,20 ±5.43	7.42 ±0,03	121.08 ±7.54	40,18 ±3.83	7.42 ±0,03
2	129.13 ±13.37	37.83 ±6.67	7.42 ±0,01	119.20 ±18.98	35.68 ±5.38	7.44 ±0,03	125.63 ±16.38	38.55 ±6.28	7.43 ±0,04
5	140,43 ±14.9	37.68 ±4.02	7.44 ±0,02	130,00 ±19.32	38.53 ±1.94	7.44 ±0,02	128.03 ±6.74	38.13 ±3.01	7.43 ±0,01
10	136.63 ±4.64	38.20 ±4.17	7.41 ±0,03	126.15 ±11.20	36.68 ±4.69	7.41 ±0,02	122.75 ±13.66	38.58 ±2.73	7.42 ±0,02
20	142.05 ±22.84	33.35 ±5.87	7.44 ±0,05	144.60 ±8.63	34.25 ±6.15	7.42 ±0,06	152.55 ±6.86	38.05 ±0,64	7.42 ±0,04
40	133.80 ±5.94	37.05 ±3.18	7.38 ±0,01	115.20 ±13.29	38.15 ±8.27	7.33 ±0,06	110,65 ±1.77	44,45 ±0,78	7.32 ±0,01
80	137.33 ±23.2	38.48 ±2.92	7.41 ±0,06	130,98 ±17.91	41.35 ±5.18	7.36 ±0,04	130,83 ±19.86	40,25 ±1.75	7.37 ±0,03
100	147.70 ±12.87	35.55 ±1.91	7.39 ±0,04	134.05 ±12.52	37.90 ±3.96	7.37 ±0,02	138.45 ±15.63	39.90 ±0,85	7.38 ±0,01

Die arteriellen Blutgasparameter gemessen vor und nach der Verabreichung von Calabadion 2. Mittelwerte± SEM

3.5. Toxikologie

Es wurden Blutproben nach einem Maximum von 18 Tagen von 2 Placeboratten und 8 Ratten nach Verabreichung von 1000 mg/kg Calabadion 2 hinsichtlich ihres Blutbildes und der Gerinnung untersucht. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den mit Calabadion 2 und den mit Placebo behandelten Ratten.

Die Anzahl von Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten betrugen $6,7 \pm 0,6$ vs. $6,4 \pm 0,6 \times 10^6/\mu\text{l}$, $11,2 \pm 1,7$ vs. $12,2 \pm 0,35 \times 10^3/\mu\text{l}$ und $749 \pm 98,9$ vs. $750 \pm 87 \times 10^3/\mu\text{l}$ nach Injektion von Calabadion 2 vs. Placebo. Hämatokrit, Hämoglobin und das mittlere korpuskuläre Volumen und die mittlere Hämoglobinkonzentration zeigten keinen

signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe. Im Hinblick auf die Gerinnungsanalysen wurde kein signifikanter Unterschied in der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit ($17,7 \pm 3,5$ vs. $18,4 \pm 5,7$ Sekunden), der Prothrombinzeit ($22,3 \pm 1,8$ vs. $20,3 \pm 1,4$ Sekunden) oder des Fibrinogens (320 ± 100 vs. 280 ± 30 mg/ml) gefunden. Die Faktor X Aktivität betrug 97 ± 25 % in der Kontrollgruppe im Vergleich zu 99 ± 12 % nach Calabadioninjektion. Auch unter Berücksichtigung der Laborwerte Albumin, Blut-Harnstoff-Stickstoff, Globulin, ALT, AST, Creatinkinase, Triglyceride, Chloride, und des Natrium - Kalium Verhältnisses zeigten sich keine signifikanten Differenzen.

3.6. Urinausscheidung von Calabadion 2

Calabadion 2 wird größtenteils über die Nieren ausgeschieden. Bei der Injektion geringer Dosen (5-10 mg/kg) betrug die Urinexkretion $62,38 \pm 17,48$ %. Bei mittleren Dosierungen (40-80 mg/kg) $49,34 \pm 31,16$ % des intravenös injiziertem Calabadion 2 jeweils 60 Minuten nach der Verabreichung.

IV. Diskussion

Calabadion 2 ist ein Breitspektrum Medikament zur dosis-abhängigen schnellen Reversierung von Vecuronium-, Rocuronium- und Cisatracurium-induzierter NMB. Calabadion 2 reversiert, ähnlich wie Sugammadex, steroidale nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung mit einem 1:1 Bindungsverhältnis. Es besitzt eine höhere Bindungsaffinität in vitro und zeigt eine höhere molare Potenz bei der Reversierung steroidal nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung in vivo. Calabadion 2 wurde von den untersuchten Ratten gut vertragen und der Großteil wurde über den Urin innerhalb von einer Stunde nach Injektion ausgeschieden.

Wirksamkeit von Calabadion 2

Das 1:1 Bindungsverhältnis zwischen Calabadion 2 und den nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung wurde bereits zuvor durch ^1H NMR und Job Plot etabliert. In dieser Studie wurden die ^1H NMR Experimente für ein „Head-to-Head“-Bindungs-Assay (direkte Vergleichsstudie) verwendet. Die Urinanalysen sowie die ähnlichen EC₅₀ Werte von Calabadion 2 und Sugammadex bestätigten das 1:1 Bindungsverhältnis.

Durch den Direktvergleich zwischen Calabadion 2 und Sugammadex bei der Bindung an Rocuronium aus dieser Studie in Verbindung mit der vorausgegangenen Erkenntnis, dass Calabadion 2 Rocuronium stärker bindet, als Calabadion 1, wurde geschlussfolgert, dass Calabadion 2 eine bessere Bindungsaffinität gegenüber Rocuronium aufweist. Dies wird unter anderem darauf zurückgeführt, dass Naphthalen- Wände eine hydrophobe Box bilden, welche komplementär zum hydrophoben steroidal Skelett von Rocuronium ist. Außerdem verursachen die ureidyl C=O Portale von Calabadion starke Ionen-Dipol Interaktionen zu den kationischen Stickstoff-Atomen des Rocuronium, was bei Sugammadex nicht möglich ist.

Die höhere in vitro Bindungsaffinität zu steroidal nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung durch Calabadion 2 im Vergleich zu Sugammadex hat das Potential, mit einer hohen in vitro molaren Potenz von Calabadion 2 assoziiert zu sein.

In Abwesenheit von Blutzirkulation, Metabolisierung und Plasmaproteinen (steady-state ex vivo Experimente) wurden keine Auswirkungen der unterschiedlichen Bindungsaffinitäten

auf die EC50 erwartet und gefunden. Dies lässt sich im Wesentlichen damit begründen, dass die hohe Bindungsselektivität von Calabadion 2 gegenüber Rocuronium in Abwesenheit von kompetitiven Plasmaproteinen keinen messbaren Vorteil verschafft, da eine unspezifische Bindung von Calabadion 2 in diesem Modell nicht vorkommen kann. Zudem kann in diesem ex vivo „steady-state“ Modell in Abwesenheit einer Blutzirkulation der Nachweis der beschleunigten Reversierung einer Rocuronium-induzierten neuromuskulären Blockade verglichen mit Sugammadex nicht erbracht werden.

Sugammadex reversiert Rocuronium und Vecuronium induzierte Blockaden durch Enkapsulierung. Es reversiert jedoch nicht das in der Klinik häufig eingesetzte Benzylisoquinolin Cisatracurium. Nach den Angaben von Geldner et al. wurde Cisatracurium zur Routineeinleitung neben Rocuronium und Pancuronium am dritthäufigsten verwendet (in ca. 1/3 der 2054 antwortenden Kliniken) und kam in Kliniken der Maximalversorgung häufiger zum Einsatz als in Praxen (Geldner et al. 2003).

Mit Calabadion 1 wurde das erste Medikament zur Reversierung einer tiefen Benzylisoquinolin-induzierten neuromuskulären Blockade beschrieben. Allerdings erfordert die Reversierung einer tiefen Benzylisoquinolin-induzierten neuromuskulären Blockade hohe Calabadion 1 Dosen, welche fraglich klinisch relevant sind.

Calabadion 2 weist im Vergleich zu Calabadion 1 eine etwa 5-fach höhere Bindungsaffinität gegenüber Cisatracurium auf, sodass zur effektiven Reversierung einer tiefen Benzylisoquinolin-induzierten neuromuskulären Blockade geringere Dosierungen erforderlich sind.

Die deutlich höhere Bindungsaffinität von Calabadion 2 zeigte sich insbesondere durch schnelles Wiedererlangen der Spontanatmung. Dies erfolgte nach Calabadion 2 Gabe signifikant schneller als nach Verabreichung aller anderen applizierten Substanzen ($17,5 \pm 6,5$ s für Calabadion 2 bis 60 mg/kg verglichen mit 465 ± 196 s für Placebo und 291 ± 99 s für Neostigmin und 47 ± 13 s für das zuvor publizierte Calabadion 1 (Hoffmann et al. 2013) bis 150 mg/kg). Die höhere Bindungsaffinität von Calabadion 2 gegenüber Cisatracurium wurde auf seine große hydrophile Höhle zurückgeführt, welche, im Gegensatz zu Calabadion 1 mit seinen 2 Benzen-Wänden, durch 2 Naphthalen-Wände umgeben ist.

Calabadion 2's Affinität gegenüber Cisatracurium ist jedoch geringer, als die gegenüber steroidal-nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung. Bei entsprechender Dosierung von Calabadion 2 konnte dennoch ein stabiler und

reproduzierbarer Reversierungs-Effekt einer Cisatracurium induzierten neuromuskulären Blockade gezeigt werden.

Nicht alle Säugetierarten reagieren gleich auf neuromuskuläre Blockaden. Ratten sind resistenter gegenüber der Injektion von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung und reagieren sensibler bei Verabreichung von depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung, jeweils im Vergleich zu Menschen. Folglich ist die Dosis-Wirkungs-Kurve von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung für Menschen im Vergleich zu Ratten nach links verschoben. Demnach sind vermutlich geringere Dosen des Medikamentes zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung beim Menschen erforderlich als bei Ratten zur Reversierung von Rocuronium benötigt wurden. Dies wird bereits durch präklinische Sugammadex-Daten bekräftigt.

Es sind weitere Studien am Menschen erforderlich, um eine Risiko-Nutzen Auswertung für Calabadion 2 vornehmen zu können.

Verträglichkeit von Calabadion 2

Die hohe Bindungsaffinität von Calabadion 2 gegenüber den nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung ist eine ermutigende pharmakologische Beobachtung. Die Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung mit Medikamenten zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung birgt jedoch das Risiko einer unspezifischen Bindung biologisch relevanter Plasmamoleküle oder zuvor verabreichter Medikamente in sich. In der klinischen Anwendung wird deutlich, dass Nebenwirkungen von Sugammadex dosis-abhängig sind. Zum jetzigen Zeitpunkt sind noch keine Auswirkungen von Calabadion 2 auf die Gerinnung beobachtet worden. Es ist dennoch in jedem Fall bei der Anwendung von enkapsulierenden Substanzen von zentraler Bedeutung, dass die geringstmögliche Menge eines molekularen Containers verabreicht wird, um Nebenwirkungen zu minimieren. Unsere Versuche verdeutlichen, dass die in vitro und in vivo Ergebnisse zur höheren Bindungsaffinität von Calabadion 2 im Vergleich zu

Sugammadex eine größerer therapeutische Breite widerspiegeln. Zur Zeit werden weitere Versuche zur Bindung von Calabation 2 an alternative Ziele durchgeführt.

Sugammadex sowie Calabation 1 und 2 werden, wie aus dieser Studie ersichtlich, innerhalb kurzer Zeit renal eliminiert. Dieses pharmakokinetische Profil trägt dazu bei, dass Langzeiteffekte der Medikamente zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mit postoperativ verabreichten Medikamenten verhindert werden.

Klinische Bedeutung

Durch die Reversierung von Benzylisoquinolinen wie Cisatracurium, welche 1/3 des Marktvolumens der nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung ausmachen, wird Calabation 2 eine hohe klinische Relevanz erlangen. Durch die höhere Selektivität von Calabation 2 gegenüber Vecuronium und Rocuronium im Vergleich zu Sugammadex ist ein geringeres Risiko zu erwarten, dass es zu Verdrängungsmechanismen oder einer unspezifischen Bindung an andere Moleküle oder Rezeptoren kommt. In einer kürzlich veröffentlichten Studie konnte gezeigt werden, dass 27 während und nach einer Operation häufig zum Einsatz kommende Medikamente (z.B. Antibiotika, Antihistaminika, Antiarrhythmika) nicht über eine ausreichende Bindungsaffinität gegenüber Calabation 2 und eine ausreichend hohe Standard-Dosierung verfügten, um den neuromuskulären Blocker aus dessen Bindung mit Calabation 2 zu verdrängen (Ganapati et al. 2016).

Im klinischen Alltag kann es zu Situationen kommen, in denen eine zweite Notoperation mit Anästhesie erforderlich ist, kurz, nachdem bereits eine Reversierung von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung stattgefunden hat. Dann ist es möglich, eine höhere Dosis des zuvor injizierten nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung zu injizieren. Cammu et al. fanden eine inverse Relation zwischen dem erneuten Wirkbeginn und dem Zeitintervall zwischen Sugammadex und der wiederholten Gabe von Rocuronium (Cammu et al. 2010).

Zur Zeit wird empfohlen, nach initialer Reversierung eines nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung mit Sugammadex, 24 Stunden bis zur erneuten Gabe von Rocuronium oder Vecuronium abzuwarten. Nach den Empfehlungen der EMA, kann nach erfolgreicher Reversierung Succinylcholin verabreicht werden. Auf Grundlage der zuvor bestimmten Bindungsaffinität zwischen Calabation 2 und Succinylcholin, wurde

ein zusätzlicher Experimentensatz durchgeführt, welcher zeigte, dass die Wirkung von Succinylcholin im Vergleich zur Injektion ohne vorhergehende Reversierung nicht signifikant beeinträchtigt war.

Ausblick

Vor der Reversierung einer neuromuskulären Blockade sollte immer zugleich ein TOF-Monitoring durchgeführt werden, da die Medikamente zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung titriert werden müssen, um unspezifische Bindungen an andere Moleküle unwahrscheinlich zu machen.

Das Monitoring der neuromuskulären Übertragung sollte im Idealfall quantitativ via Acceleromyographie oder Elektromyographie erfolgen, um residuelle Blockaden am Ende der Operation zu bestimmen oder auszuschließen.

Nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung werden insbesondere verwendet, um tracheale Intubationen an Patienten vorzunehmen und, um die Operationsbedingungen zu erleichtern. Um diese Ziele während der gesamten Operation optimal zu erreichen, werden oft hohe Dosen an Relaxantien verwendet, wodurch sich das Risiko der Entstehung eines Relaxantien-Überhangs oder einer postoperativen residuellen Blockade erhöht, welches mit einem gesteigerten Risiko für Komplikationen der Atemwege assoziiert ist.

Im Falle einer residuellen Blockade sollte eine Reversierung stattfinden. Hierfür kommen momentan im Wesentlichen zwei Konzepte zum Einsatz: die Acetylcholinesterase-Inhibitoren und die molekularen Medikamente zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung.

Lediglich durch den Einsatz von Medikamenten zur Enkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung gelingt es, auch tiefe Stufen der neuromuskulären Blockade aufzulösen. Außerdem kommt es durch den direkten Prozess der Enkapsulierung zu keinem Auftreten muskarinergener Nebenwirkungen, sodass keine zusätzliche Gabe eines anti-muskarinergen Medikamentes, wie z.B. Atropin, erforderlich ist.

Die Entwicklung von Calabadiol 2 stellt eine wesentliche Neuerung dar, indem dieses Molekül sowohl eine optimale Reversierung der steroidal nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung Rocuronium und Vecuronium, als auch des Benzylisoquinolines Cisatracurium verspricht.

Insbesondere die Einkapsulierung von Cisatracurium könnte helfen, die momentan ungelöste Problematik einer „cannot intubate cannot ventilate“-Situation nach Cisatracuriumgabe in den Griff zu bekommen.

Das Risiko bei der Gabe von Medikamenten zur Einkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung ist der Austausch des nicht-depolarisierenden Blockers der neuromuskulären Übertragung durch ein endogenes Molekül oder ein zuvor verabreichtes Medikament mit einer höheren oder ähnlichen Bindungsaffinität zu dem Medikament zur Einkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung oder die unspezifische Bindung des Medikamentes zur Einkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung an andere Ziele.

Ziel bei der Weiterentwicklung der Möglichkeiten in diesem Bereich ist die Konstruktion eines Medikamentes zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Einkapsulierung mit 1. hoher Affinität zum nicht-depolarisierenden Blocker der neuromuskulären Übertragung, um das Risiko eines Austausches durch affinere Moleküle zu reduzieren, 2. hoher Spezifität, um die Gefahr einer unspezifischen Bindung an alternative Ziele zu minimieren, 3. keinen/minimalen Nebenwirkungen und keiner Toxizität sowie 4. einem schnellen Wirkungseintritt.

Sowohl hinsichtlich der Selektivität als auch der Dosierung sind weitere Verbesserungen erforderlich, um mögliche Nebenwirkungen wie Blutungsereignisse oder eine Einschränkung der Kontrazeption zu vermeiden. Auch eine weitere Verbesserung der Affinität könnte dazu beitragen, die erforderlichen Dosen zu reduzieren, wodurch sich die Nebenwirkungsrate weiter senken ließe.

Insgesamt wird die Bedeutung von Medikamenten zur Einkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden weiter an Bedeutung zunehmen. Bei der Entwicklung neuer Medikamente müssen in vitro, ex vivo und in vivo Ergebnisse einbezogen werden, um die Effektivität eines Medikamentes zur Einkapsulierung nicht-depolarisierender Blocker der

neuromuskulären Übertragung zu bestimmen. Bei dem Ansatz der molekularen Enkapsulierung ist zu bedenken, dass sich Unterschiede in der Selektivität auf das Potential in vivo auswirken. Moleküle mit einer höheren Affinität, die das Gastmolekül ersetzen können, sind ex vivo bei der Abwesenheit von Plasmamolekülen nicht zu erwarten.

Zukünftig sollte trotz des zu erwartenden steigenden Gebrauches von Medikamenten zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung mittels Enkapsulierung die Indikationsstellung für den Einsatz dieser Präparate weiterhin kritisch überdacht und mit anderen Methoden der Immobilisation, wie z.B. Opiaten und Anästhetika, abgewogen werden.

V. Zusammenfassung

Nicht-depolarisierende Blocker der neuromuskulären Übertragung spielen im klinischen Alltag eine bedeutende Rolle. Ihr Einsatz ist mit Risiken verbunden, wie beispielsweise der residuellen Blockade oder einer tödlichen Apnoe, wenn nach Injektion eines Muskelrelaxans keine Intubation oder Maskenbeatmung möglich ist. Zur Vermeidung dieser Risiken ist ihre Reversierung klinisch bedeutsam.

Typischerweise werden Acetylcholinesterase-Inhibitoren verwendet, welche zu einer Erhöhung des Neurotransmitters Acetylcholin führen. Konsekutiv kommt es zu einer Reversierung der Effekte nicht-depolarisierender Hemmstoffe der neuromuskulären Übertragung mittels kompetitiver Inhibition. Nachteile sind die unzureichende Wirksamkeit bei tiefer neuromuskulärer Blockade und eine sehr geringe therapeutische Breite.

Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente dienten dazu, die Effektivität des enkapsulierenden Medikaments Calabadion 2 zu ermitteln. Es erfolgten Versuchsreihen *in vitro*, *ex vivo*, und *in vivo*. Die dosis-abhängigen Effekte von zwei Calabadionpräparaten, einem Cyclodextrin (Sugammadex) und einem Acetylcholinesteraseinhibitor (Neostigmin) zur Reversierung von Vecuronium-, Rocuronium- und Cisatracurium-induzierter neuromuskulärer Blockade wurden untersucht.

In vitro wies Calabadion 2 eine 89-fach höhere Affinität gegenüber Rocuronium auf, als Sugammadex. Im Zusammenspiel mit den *ex vivo* Versuchen konnte bei Rocuronium gezeigt werden, dass Sugammadex und Calabadion über einen 1:1 Bindungsmechanismus agieren. *In vivo* reversierte Calabadion 2 in kurzer Zeit alle induzierten neuromuskulären Blockaden und wurde über den Urin eliminiert.

Insgesamt wird die Bedeutung molekularer Container zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden weiter an Bedeutung zunehmen. Bei der Entwicklung neuer Medikamente sollten stets *in vitro*, *ex vivo* und *in vivo* Ergebnisse einbezogen werden, um die Effektivität zu bestimmen. Bei dem Ansatz der molekularen Enkapsulierung muss bedacht werden, dass bei nicht optimaler Bindungsselektivität sogenannte „Displacementnebenwirkungen“ auftreten können. Wird nämlich nach erfolgreicher Reversierung einer neuromuskulären Blockade ein anderes Medikament verabreicht, welches ebenfalls an ein Enkapsulierungsmedikament bindet, so kann es zu einer sogenannten „Recurarisierung“, einem Wiederauftreten einer neuromuskulären Blockade kommen. Dementsprechend weist die hohe Effektivität und Bindungsaffinität von Calabadion auf ein klinisch günstiges Wirkprofil hin.

Literaturverzeichnis

1. Aeschlimann JA. (1933): Disubstituted carbamic acid esters of phenols containing a basic constituent, patent US 1905990 A.
2. Ali HH, Kitz RJ. (1973): Evaluation of recovery from nondepolarizing neuromuscular block, using a digital neuromuscular transmission analyzer: preliminary report. *Anesthesia and analgesia*, 52(5), S.740–745.
3. Ali HH, Savarese JJ. (1976): Monitoring of neuromuscular function. *Anesthesiology*, 45(2), S.216–249.
4. Ali HH, Wilson RS, Savarese JJ, Kitz RJ. (1975): The effect of tubocurarine on indirectly elicited train-of-four muscle response and respiratory measurements in humans. *British journal of anaesthesia*, 47(5), S.570–574.
5. Arbous MS, Meursing AEE, van Kleef JW, De Lange JJ, Spoormans HHAJM, Touw P, Werner FM, Grobbee DE. (2005): Impact of anesthesia management characteristics on severe morbidity and mortality. *Anesthesiology*, 102(2), S.257–68.
6. Arora NS & Gal TJ. 1981: Cough dynamics during progressive expiratory muscle weakness in healthy curarized subjects. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*, 51(2), S.494–498.
7. Baillard C, Clec'h C, Catineau J, Salhi F, Gehan G, Cupa M, Samamaet CM. (2005): Postoperative residual neuromuscular block: a survey of management. *British journal of anaesthesia*, 95(5), S.622–626.
8. Barrow ME, Johnson JK. (1966): A study of the anticholinesterase and antitcurare effects of some cholinesterase inhibitors. *British journal of anaesthesia*, 38(6), S.420–431.
9. Berg H, Viby-Mogensen J, Roed J, Mortensen CR, Engbaek J, Skovgaard LT, Krintel JJ. (1997): Residual neuromuscular block is a risk factor for postoperative pulmonary complications. A prospective, randomised, and blinded study of postoperative pulmonary complications after atracurium, vecuronium and pancuronium. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 41(9), S.1095–1103.
10. Bevan DR, Archer D, Donati F, Ferguson A, Higgs BD. (1982): Antagonism of pancuronium in renal failure: no recurarization. *British journal of anaesthesia*, 54(1), S.63–68.
11. Bégin P, Mathieu J, Almirall J, Grassino A. (1997): Relationship between chronic hypercapnia and inspiratory-muscle weakness in myotonic dystrophy. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 156(1), S.133–139.

12. Bishop MJ, Hornbein TF. (1983): Prolonged effect of succinylcholine after neostigmine and pyridostigmine administration in patients with renal failure. *Anesthesiology*, 58(4), S.384–386.
13. Blondet B, Carpentier G, Ferry A, Chatonnet A, Courty J. (2010): Localization of butyrylcholinesterase at the neuromuscular junction of normal and acetylcholinesterase knockout mice. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, 58(12), S.1075–1082.
14. Bloxiverz, prescribing information- http://bloxiverz.com/data-info/uploads/2016/02/Bloxiverz_0,51mg_Leaflet_Website_FIN.pdf (22.3.16).
15. Bodman RI. (1952): Evaluation of two synthetic curarizing agents in conscious volunteers. *British journal of pharmacology and chemotherapy*, 7(3), S.409–416.
16. Bom A, Bradley M, Cameron K, Clark JK, van Egmond J, Feilden H, MacLean EJ, Muir AW, Palin R, Rees DC, Zhang M. (2002): A novel concept of reversing neuromuscular block: chemical encapsulation of rocuronium bromide by a cyclodextrin-based synthetic host. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 41(2), S.266–270.
17. Booij LHDJ. (2009): Cyclodextrins and the emergence of sugammadex. *Anaesthesia*, 64 Suppl 1, S.31–37.
18. Bradley H, Gough A, Sokhi RS, Hassell A, Waring R, Emery P. (1994): Sulfate metabolism is abnormal in patients with rheumatoid arthritis. Confirmation by in vivo biochemical findings. *The Journal of rheumatology*, 21(7), S.1192–1196.
19. Brueckmann B, Sasaki N, Grobara P, Li MK, Woo T, de Bie J, Maktabi M, Lee J, Kwo J, Pino R, Sabouri AS, McGovern F, Staehr-Rye AK, Eikermann M. (2015): Effects of sugammadex on incidence of postoperative residual neuromuscular blockade: a randomized, controlled study. *British journal of anaesthesia*, 115(5), S.743–51.
20. Butterly A, Bittner EA, George E, Sandberg WS, Eikermann M, Schmidt U. (2010): Postoperative residual curarization from intermediate-acting neuromuscular blocking agents delays recovery room discharge. *British journal of anaesthesia*, 105(3), S.304–309.
21. Caldwell JE, Miller RD. (2009): Clinical implications of sugammadex. *Anaesthesia*, 64 Suppl 1, S.66–72.
22. Caldwell JE, Robertson EN, Baird WL. (1986): Antagonism of profound neuromuscular blockade induced by vecuronium or atracurium. Comparison of neostigmine with edrophonium. *British journal of anaesthesia*, 58(11), S.1285–1289.
23. Cammu G, de Baerdemaeker L, Blauwen den N, Mortier. (2002): Postoperative residual curarization with cisatracurium and rocuronium infusions. *European journal of anaesthesiology*, 19(2), S.129–134.

24. Cammu G, de Kam P-J, De Graeve K, Van den Heuvel M, Suy K, Morias K, Foubert L, Grobara P, Peeters P. (2010): Repeat dosing of rocuronium 1.2 mg kg⁻¹ after reversal of neuromuscular block by sugammadex 4.0 mg kg⁻¹ in anaesthetized healthy volunteers: a modelling-based pilot study. *British journal of anaesthesia*, 105(4), S.487–492.
25. Chemali JJ, Van Dort CJ, Brown EN, Solt K. (2012): Active emergence from propofol general anesthesia is induced by methylphenidate. *Anesthesiology*, 116(5), S.998–1005.
26. Cheng C-R, Sessler DI, Apfel CC. (2005): Does neostigmine administration produce a clinically important increase in postoperative nausea and vomiting? *Anesthesia and analgesia*, 101(5), S.1349–1355.
27. Churchill-Davidson HC. (1965): The D-Tubocurarine dilemma. *Anesthesiology*, 26, S.132–133.
28. Colović MB, Krstić DZ, Lazarević-Pašti TD, Bondžić AM, Vasić VM. (2013): Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current neuropharmacology*, 11(3), S.315–335.
29. Costa J, Evangelista T, Conceição I, Carvalho M de. (2004): Repetitive nerve stimulation in myasthenia gravis—relative sensitivity of different muscles. *Clinical Neurophysiology*, 115(12), S.2776–2782.
30. Cowan SL. (1938): The action of eserine-like and curare-like substances on the responses of frog's nerve-muscle preparations to repetitive stimulation. *The Journal of physiology*, 93(3), S.215–262.
31. Cram DJ. (1983): Cavitands: organic hosts with enforced cavities. *Science (New York, N.Y.)*, 219(4589), S.1177–1183.
32. Cremieux J, Veraart C, Wanet MC. (1984): Development of the air righting reflex in cats visually deprived since birth. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Expérimentation cérébrale*, 54(3), S.564–566.
33. Cronnelly R, Stanski DR, Miller RD, Sheiner LB, Sohn, YJ. (1979): Renal Function and the Pharmacokinetics of Neostigmine in Anesthetized Man. *Anesthesiology*, 51(3), S.222-6.
34. Cronnelly R, Stanski DR, Miller RD, Sheiner LB. (1980): Pyridostigmine kinetics with and without renal function. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 28(1), S.78–81.
35. Curtis R, Lomax, S. & Patel B. (2012): Use of sugammadex in a 'can't intubate, can't ventilate' situation. *British journal of anaesthesia*, 108(4), S.612–614.

36. Da Ma, Hettiarachchi G, Nguyen D, Zhang B, Wittenberg JB, Zavalij PY, Briken V, Isaacs L. (2014): Acyclic cucurbit[n]uril molecular containers enhance the solubility and bioactivity of poorly soluble pharmaceuticals. *Nature chemistry*, 4(6), S.503–510.
37. Dahaba AA, Klobucar Von F, Rehak PH, List WF. (1999): Comparison of a new piezoelectric train-of-four neuromuscular monitor, the ParaGraph, and the Relaxometer mechanomyograph. *British journal of anaesthesia*, 82(5), S.780–782.
38. Dam WH & Guldman N. (1961): Inadequate postanesthetic ventilation. Curare, anesthetic, narcotic, diffusion hypoxia. *Anesthesiology*, 22, S.699–707.
39. Darvesh S, Hopkins DA, Geula C. (2003): Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(2), S.131–138.
40. De Kam P-J, Grobara P, Prohn M, Hoepfner F, Kluft C, Burggraaf J, Langdon RB, Peeters P. (2014): Effects of sugammadex on activated partial thromboplastin time and prothrombin time in healthy subjects. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 52(3), S.227–236.
41. Debaene B, Plaud B, Dilly M-P, Donati F. (2003): Residual paralysis in the PACU after a single intubating dose of nondepolarizing muscle relaxant with an intermediate duration of action. *Anesthesiology*, 98(5), S.1042–1048.
42. Diaz-Gil D, Haerter F, Falcinell S, Ganapati S. (2016): A Novel Strategy to Reverse General Anesthesia by Scavenging with the Acyclic Cucurbit[n]uril-type Molecular Container Calabaddon 2. *Anesthesiology*, 125(2), S.333–345.
43. Eikermann M, Groeben H, Hüsing J, Peters J. (2003): Accelerometry of adductor pollicis muscle predicts recovery of respiratory function from neuromuscular blockade. *Anesthesiology*, 98(6), S.1333–1337.
44. Eikermann M, Groeben H, Bünten B, Peters J. (2005): Fade of pulmonary function during residual neuromuscular blockade. *Chest*, 127(5), S.1703–1709.
45. Eikermann M, Zaremba S, Malhotra A, Jordan AS, Rosow C, Chamberlin NL. (2008): Neostigmine but not sugammadex impairs upper airway dilator muscle activity and breathing. *British journal of anaesthesia*, 101(3), S.344–349.
46. Eikermann M, Blobner M, Groeben H, Rex C, Grote T, Neuhäuser M, Beiderlinden M, Peters J. (2006): Postoperative upper airway obstruction after recovery of the train of four ratio of the adductor pollicis muscle from neuromuscular blockade. *Anesthesia and analgesia*, 102(3), S.937–942.
47. Eikermann M, Groeben H, Hüsing J, Peters J. (2004): Predictive value of mechanomyography and accelerometry for pulmonary function in partially paralyzed volunteers. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 48(3), S.365–370.

48. Eikermann M, Fassbender P, Malhotra A, Takahashi M, Kubo S, Jordan AS, Gautam S, White DP, Chamberlin NL. (2007): Unwarranted administration of acetylcholinesterase inhibitors can impair genioglossus and diaphragm muscle function. *Anesthesiology*, 107(4), S.621–629.
49. Eikermann M, Gerwig M, Hasselmann C, Fiedler G, Peters J. (2007): Impaired neuromuscular transmission after recovery of the train-of-four ratio. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 51(2), S.226–234.
50. Eikermann M, Vogt, FM, Herbstreit F, Vahid-Dastgerdi M, Zenge MO, Ochterbeck C, de Greiff A, Peters J. (2007): The predisposition to inspiratory upper airway collapse during partial neuromuscular blockade. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 175(1), S.9–15.
51. Epemolu O, Bom A, Hope F, Mason R. (2003): Reversal of neuromuscular blockade and simultaneous increase in plasma rocuronium concentration after the intravenous infusion of the novel reversal agent Org 25969. *Anesthesiology*, 99(3), S.632–7.
52. Erbaş M, Toman H, Şahin H, Kiraz HA, Barutcu A, Simsek T, Yener AU, Uzun M, Altinişik U. (2014): Comparison of effects of sugammadex and neostigmine on QTc prolongation in rabbits under general anesthesia. *Acta cirúrgica brasileira / Sociedade Brasileira para Desenvolvimento Pesquisa em Cirurgia*, 29(12), S.807–811.
53. Eriksson LI. (1996): Reduced hypoxic chemosensitivity in partially paralysed man. A new property of muscle relaxants? *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 40(5), S.520–523.
54. Eriksson LI, Sundman E, Olsson R, Nilsson L, Witt H, Ekberg O, Kuylensstierna R. (1997): Functional assessment of the pharynx at rest and during swallowing in partially paralyzed humans: simultaneous videomanometry and mechanomyography of awake human volunteers. *Anesthesiology*, 87(5), S.1035–1043.
55. European Medicines Agency (EMA), Summary of product characteristics, S.1-33, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000885/WC500052310.pdf (22.3.16).
56. Fisher DM, Canfell PC, Fahey MR, Rosen JI, Rupp SM, Sheiner LB, RD, 1986. Elimination of atracurium in humans: contribution of Hofmann elimination and ester hydrolysis versus organ-based elimination. *Anesthesiology*, 65(1), S.6–12.
57. Food and Drug Administration, Approval status Sugammadex, <http://www.drugs.com/history/bridion.html> (22.3.16).
58. Fortier L-P, McKeen D, Turner K, de Medicis E, Warriner B, Jones PM, Chaput A, Pouliot JF, Galarneau A. (2015): The RECITE Study: A Canadian Prospective, Multicenter Study of the Incidence and Severity of Residual Neuromuscular Blockade. *Anesthesia and analgesia*, 121(2), S.366–372.

59. Frankel H, Jeng J, Tilly E, St Andre A, Champion H. (1996): The impact of implementation of neuromuscular blockade monitoring standards in a surgical intensive care unit. *The American surgeon*, 62(6), S.503–506.
60. Fuchs-Buder T, Fink H, Hofmockel R, Geldner G, Ulm K, Blobner M. (2008): [Application of neuromuscular monitoring in Germany]. *Der Anaesthesist*, 57(9), S.908–914.
61. Fuchs-Buder, T., Schreiber, J.-U. & Meistelman, C. (2009): Monitoring neuromuscular block: an update. *Anaesthesia*, 64 Suppl 1, S.82–89.
62. Fujita A, Ishibe N, Yoshihara T, Ohashi J, Makino H, Ikeda M, Setoguchi H. (2014): Rapid reversal of neuromuscular blockade by sugammadex after continuous infusion of rocuronium in patients with liver dysfunction undergoing hepatic surgery. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, 52(2), S.54–58.
63. Ganapati S, Zavalij PY, Eikermann M, Isaacs L. (2016): In Vitro selectivity of an acyclic cucurbit[n]uril molecular container towards neuromuscular blocking agents relative to commonly used drugs. *Organic & biomolecular chemistry*, 14(4), S.1277–1287.
64. Garcia RA, Stipanuk MH. (1992): The splanchnic organs, liver and kidney have unique roles in the metabolism of sulfur amino acids and their metabolites in rats. *The Journal of nutrition*, 122(8), S.1693–1701.
65. Geldner G, Fuchs-Buder T, Hofmockel R, Diefenbach C. (2003): Anwendung von Muskelrelaxanzien zur Routineeinleitung in Deutschland - Springer. *Der Anaesthesist*.
66. Gissen AJ, Katz RL, Karis JH, Papper EM. (1966): Neuromuscular block in man during prolonged arterial infusion with succinylcholine. *Anesthesiology*, 27(3), S.242–249.
67. Gottlieb, JD & Sweet, RB, 1963. The antagonism of curare: the cardiac effects of atropine and neostigmine. *Canadian Anaesthetists' Society journal*, 10, S.114–121.
68. Grabitz SD, Ganapati S, Cotten JF, Isaacs L, Eikermann M. (2015): Calabadion 1 binds cocaine in vitro and reverses cocaine's behavioral effects dose-dependently in vivo, Abstract A1193, American Society of Anesthesiologists Annual Meeting 2015, Orlando, Florida.
69. Gray TC & Rees GJ. (1952): The role of apnoea in anaesthesia for major surgery. *British medical journal*, 2(4790), S.891–892.
70. Gray TC & Wilson F. (1959): The development and use of muscle relaxants in the United Kingdom. *Anesthesiology*, 20(4), S.519–529.
71. Griffith MD, Johnson GE. (1942): The ues of curare in general anesthesia, *Anesthesiology*, 3, S.418-420.

72. Grosse-Sundrup M, Henneman JP, Sandberg WS, Bateman TB, Uribe JV, Nguyen NT, Ehrenfeld JM, Martinez EA, Kurth T, Eikermann M. (2012): Intermediate acting non-depolarizing neuromuscular blocking agents and risk of postoperative respiratory complications: prospective propensity score matched cohort study. *BMJ (Clinical research ed.)*, 345, S.e6329.
73. Haerter F, Simons JCP, Foerster U, Moreno Duarte I, Diaz-Gil D, Ganapati S, Eikermann-Haerter K, Ayata C, Zhang B, Blobner M, Isaacs L, Eikermann M. (2015): Comparative Effectiveness of Calabation and Sugammadex to Reverse Non-depolarizing Neuromuscular-blocking Agents. *Anesthesiology*, 123(6), S.1337-1349.
74. Heafield MT, Fearn S, Steventon GB, Waring RH, Williams AC, Sturman SG. (1990): Plasma cysteine and sulphate levels in patients with motor neurone, Parkinson's and Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*, 110(1-2), S.216-220.
75. Heerdt PM, Sunaga H. & Savarese JJ. (2015): Novel neuromuscular blocking drugs and antagonists. *Current opinion in anaesthesiology*, 28(4), S.403-410.
76. Hemmerling TM & Le N. (2007): Brief review: Neuromuscular monitoring: an update for the clinician. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie*, 54(1), S.58-72.
77. Herbstreit F, Zigrain D, Ochterbeck C, Peters J, Eikermann M. (2010): Neostigmine/glycopyrrolate administered after recovery from neuromuscular block increases upper airway collapsibility by decreasing genioglossus muscle activity in response to negative pharyngeal pressure. *Anesthesiology*, 113(6), S.1280-1288.
78. Herbstreit F, Peters J, Eikermann M. (2009): Impaired upper airway integrity by residual neuromuscular blockade: increased airway collapsibility and blunted genioglossus muscle activity in response to negative pharyngeal pressure. *Anesthesiology*, 110(6), S.1253-1260.
79. Hoffmann U, Grosse-Sundrup M, Eikermann-Haerter K, Zaremba S, Ayata C, Zhang B, Ma D, Isaacs L, Eikermann M. (2013): Calabation: A New Agent to Reverse the Effects of Benzylisoquinoline and Steroidal Neuromuscular-blocking Agents. *Anesthesiology*, 119(2), S.317-25.
80. Janáky R, Varga V, Hermann A, Saransaari P, Oja SS. (2000): Mechanisms of L-cysteine neurotoxicity. *Neurochemical research*, 25(9-10), S.1397-1405.
81. Jones RK, Caldwell JE, Brull SJ, Soto RG. (2008): Reversal of profound rocuronium-induced blockade with sugammadex: a randomized comparison with neostigmine. *Anesthesiology*, 109(5), S.816-824.
82. Kam P-J de, Heuvel MWVD, Grobara P, Zwiers A, Jadoul JL, Clerck Ed, Ramael S, Peeters PA. (2012): Flucloxacillin and diclofenac do not cause recurrence of neuromuscular blockade after reversal with sugammadex. *Clinical drug investigation*, 32(3), S.203-212.

83. Kopman AF & Eikermann M. (2009): Antagonism of non-depolarising neuromuscular block: current practice. *Anaesthesia*, 64 Suppl 1, S.22–30.
84. Kopman AF, Ng J, Zank LM, Neumann GG, Yee PS. (1996): Residual postoperative paralysis. Pancuronium versus mivacurium, does it matter? *Anesthesiology*, 85(6), S.1253–1259.
85. Kotake Y, Ochiai R, Suzuki T, Ogawa S, Takagi S, Ozaki M, Nakatsuka I, Takeda J. (2013): Reversal with sugammadex in the absence of monitoring did not preclude residual neuromuscular block. *Anesthesia and analgesia*, 117(2), S.345–351.
86. Krarup C. (1981): Enhancement and diminution of mechanical tension evoked by staircase and by tetanus in rat muscle. *The Journal of physiology*, 311, S.355–372.
87. Le Corre F, Nejmeddine S, Fatahine C, Tayar C, Marty J, Plaud B. (2011): Recurarization after sugammadex reversal in an obese patient. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie*, 58(10), S.944–947.
88. Ledowski T, Ong JS & Flett T. (2015): Neuromuscular monitoring, muscle relaxant use, and reversal at a tertiary teaching hospital 2.5 years after introduction of sugammadex: changes in opinions and clinical practice. *Anesthesiology research and practice*, 2015, S.367937.
89. Lee C, Jahr JS, Candiotti KA, Warriner B, Zornow MH, Naguib M. (2009): Reversal of profound neuromuscular block by sugammadex administered three minutes after rocuronium: a comparison with spontaneous recovery from succinylcholine. *Anesthesiology*, 110(5), S.1020–1025.
90. Lee GC, Iyengar S, Szenohradszky J, Caldwell JE, Wright PM, Brown R, Lau M, Luks A, Fisher DM. (1997): Improving the design of muscle relaxant studies. Stabilization period and tetanic recruitment. *Anesthesiology*, 86(1), S.48–54.
91. Lehmann, T., H-NMR-Spektroskopie, 2015- http://www.bcp.fu-berlin.de/chemie/chemie/studium/ocpraktikum/_Unterlagen_Spektroskopie/nmr.pdf (22.3.2016); http://www.bcp.fu-berlin.de/chemie/chemie/studium/ocpraktikum/_Unterlagen_Spektroskopie/uv.pdf (22.3.2016).
92. Lenz A, Hill G & White PF. (2007): Emergency use of sugammadex after failure of standard reversal drugs. *Anesthesia and analgesia*, 104(3), S.585–586.
93. Lien CA, Savard P, Belmont M, Sunaga H, Savarese JJ. (2009): Fumarates: unique nondepolarizing neuromuscular blocking agents that are antagonized by cysteine. *Journal of critical care*, 24(1), S.50–57.
94. Løvstad RZ, Thagaard KS, Berner NS, Raeder JC. (2001): Neostigmine 50 microg kg(-1) with glycopyrrolate increases postoperative nausea in women after laparoscopic gynaecological surgery. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 45(4), S.495–500.

95. Ma D, Glassenberg R, Ghosh S, Zavalij PY, Isaacs L. (2012): Acyclic cucurbituril congener binds to local anaesthetics. *Supramolecular Chemistry*, 24(5), S.325–332.
96. Ma D, Zhang B, Hoffmann U, Grosse Sundrup M, Eikermann M, Isaacs L. (2012): Acyclic Cucurbit[n]uril-Type Molecular Containers Bind Neuromuscular Blocking Agents In Vitro and Reverse Neuromuscular Block In Vivo. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(45), S.11358–11362.
97. Maggi L & Mantegazza R. (2011): Treatment of myasthenia gravis: focus on pyridostigmine. *Clinical drug investigation*, 31(10), S.691–701.
98. Mascia MF, Koch M & Medicis JJ. (2000): Pharmacoeconomic impact of rational use guidelines on the provision of analgesia, sedation, and neuromuscular blockade in critical care. *Critical care medicine*, 28(7), S.2300–2306.
99. Maybauer DM, Geldner G, Blobner M, Pühringer F, Hofmockel R, Rex C, Wulf HF, Eberhart L, Arndt C, Eikermann M. (2007): Incidence and duration of residual paralysis at the end of surgery after multiple administrations of cisatracurium and rocuronium. *Anaesthesia*, 62(1), S.12–17.
100. McLean DJ, Diaz-Gil D, Farhan HN, Ladha KS, Kurth T, Eikermann M. (2015): Dose-dependent Association between Intermediate-acting Neuromuscular-blocking Agents and Postoperative Respiratory Complications. *Anesthesiology*, 122(6), S.1201–1213.
101. Mencke T, Echternach M, Kleinschmidt S, Lux P. (2003): Laryngeal morbidity and quality of tracheal intubation. *Anesthesiology*, 98(5), S.1049-56.
102. Menéndez-Ozcoidi L, Ortiz-Gómez JR, Olaguibel-Ribero JM, Salvador-Bravo MJ. (2011): Allergy to low dose sugammadex. *Anaesthesia*, 66(3), S.217–219.
103. Mestinon,
http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2001/09829s9lbl.pdf
(22.3.16).
104. Miller RD. (1977): Reversal of Neuromuscular Blockade. *ASA Refresher Courses in Anesthesiology*, 5, S.125-136.
105. Miller RD, Van Nyhuis LS, Eger EI, Vitez TS, Way WL. (1974): Comparative times to peak effect and durations of action of neostigmine and pyridostigmine. *Anesthesiology*, 41(1), S.27–33.
106. Mirakhur RK, Dundee JW & Clarke RS. (1977): Glycopyrrolate-neostigmine mixture for antagonism of neuromuscular block: comparison with atropine-neostigmine mixture. *British journal of anaesthesia*, 49(8), S.825–829.
107. Miskolczy Z, Megyesi M, Tárkányi G, Mizsei R, Bizok L. (2011): Inclusion complex formation of sanguinarine alkaloid with cucurbit[7]uril: inhibition of nucleophilic attack and photooxidation. *Organic & biomolecular chemistry*, 9(4), S.1061–1070.

108. Murphy GS, Brull SJ. (2010): Residual neuromuscular block: lessons unlearned. Part I: definitions, incidence, and adverse physiologic effects of residual neuromuscular block. *Anesthesia and analgesia*, 111(1), S.120–128.
109. Murphy GS, Szokol JW, Avram MJ, Greenberg SB, Shear TD, Vender JS, Parikh KN, Patel SS, Patel A. (2015): Residual Neuromuscular Block in the Elderly: Incidence and Clinical Implications. *Anesthesiology*, 123(6), S.1322–1336.
110. Naguib M, Kopman AF, Lien CA, Hunter JM, Lopez A, Brull SJ. (2010): A survey of current management of neuromuscular block in the United States and Europe. *Anesthesia and analgesia*, 111(1), S.110–119.
111. Naguib M, Kopman AF, Ensor JE. (2007): Neuromuscular monitoring and postoperative residual curarisation: a meta-analysis. *British journal of anaesthesia*, 98(3), S.302–316.
112. Naguib M, Lien CA, Meistelmänn C. (2015): *Miller's Anesthesia*, 8th edition, Canada: Elsevier Health Sciences; chapter 34, S.958ff.
113. Nair VP, Hunter JM. (2004): Anticholinesterases and anticholinergic drugs. *Oxford journals*, 4, S.164-168.
114. Nedergaard OA. (2003): Curare: the flying death. *Pharmacology & toxicology*, 92(4), S.154–155.
115. Nickalls RWD & Nickalls EA. (2007): The first reversal of curare. *Anaesthesia*, 40(6), S.572–573.
116. Nonaka T, Fujimoto M, Nishi M, Yamamoto T. (2013): The effect of rocuronium and sugammadex in hepatic tumor patients without preoperative hepatic impairment]. *Masui. The Japanese journal of anesthesiology*, 62(3), S.304–308.
117. Osmer C, Vogele C, Zickmann B, Hempelmann G. (1996): Comparative use of muscle relaxants and their reversal in three European countries: a survey in France, Germany and Great Britain. *European journal of anaesthesiology*, 13(4), S.389–399.
118. Panhuizen IF, Gold SJA, Buerkle C, Snoeck MMJ, Harper NJN, Kaspers MJGH, Van den Heuvel MW, Hollmann MW. (2015): Efficacy, safety and pharmacokinetics of sugammadex 4 mg kg⁻¹ for reversal of deep neuromuscular blockade in patients with severe renal impairment. *British journal of anaesthesia*, 114(5), S.777–784.
119. Pavlin EG, Holle RH, Schoene RB. (1989): Recovery of airway protection compared with ventilation in humans after paralysis with curare. *Anesthesiology*, 70(3), S.381–385.

120. Peeters P, Passier P, Smeets J, Zwiers A, de Zwart M, van de Wetering-Krebbers S, van Iersel M, van Marle S, van den Dobbelsteen D. (2011): Sugammadex is cleared rapidly and primarily unchanged via renal excretion. *Biopharmaceutics & drug disposition*, 32(3), S.159–167.
121. Pratt CI. (1988): Bronchospasm after neostigmine. *Anaesthesia*, 43(3), S.248.
122. Raghavendra T. (2002): Neuromuscular blocking drugs: discovery and development. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 95(7), S.363–367.
123. Rahe-Meyer N, Fennema H, Schulman S, Klimscha W, Przemeck M, Blobner M, Wulf H, Speck M, McCrary Sisk C, Williams-Herman D, Woo T, Szegedi A. (2014): Effect of reversal of neuromuscular blockade with sugammadex versus usual care on bleeding risk in a randomized study of surgical patients. *Anesthesiology*, 121(5), S.969–977.
124. Ramamurthy S, Shaker MH & Winnie AP. (1972): Glycopyrrolate as a substitute for atropine in neostigmine reversal of muscle relaxant drugs. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie*, 19(4), S.399–411.
125. Rhoney DH & Murry KR. (2003): National survey of the use of sedating drugs, neuromuscular blocking agents, and reversal agents in the intensive care unit. *Journal of intensive care medicine*, 18(3), S.139–145.
126. Sacan O, White PF, Tufanogullari B, Klein K. (2007): Sugammadex reversal of rocuronium-induced neuromuscular blockade: a comparison with neostigmine-glycopyrrolate and edrophonium-atropine. *Anesthesia and analgesia*, 104(3), S.569–574.
127. Samet A, Capron F, Alla F, Meistelman C, Fuchs-Buder T. (2005): Single acceleromyographic train-of-four, 100-Hertz tetanus or double-burst stimulation: which test performs better to detect residual paralysis? *Anesthesiology*, 102(1), S.51–56.
128. Sasaki N, Meyer MJ, Malviya SA, Stanislaus AB, MacDonald T, Doran ME, Igumenshcheva A, Hoang AH, Eikermann M. (2014): Effects of neostigmine reversal of nondepolarizing neuromuscular blocking agents on postoperative respiratory outcomes: a prospective study. *Anesthesiology*, 121(5), S.959–968.
129. Savarese JJ, McGilvra JD, Sunaga H, Belmont MR, Van Ornum SG, Savard PM, Heerdt PM. (2010): Rapid chemical antagonism of neuromuscular blockade by L-cysteine adduction to and inactivation of the olefinic (double-bonded) isoquinolinium diester compounds gantacurium (AV430A), CW 002, and CW 011. *Anesthesiology*, 113(1), S.58–73.
130. Schaller SJ, Fink H. (2013): Sugammadex as a reversal agent for neuromuscular block: an evidence-based review. *Core evidence*, 8, S.57–67.

131. Schneider HJ, Na'il Saleh, Indrajit Ghosh and Werner M. Nau. (2013): Supramolecular Systems in Biomedical Fields, Cambridge: RSC publishing; chapter 7, S.164ff.
132. Schubert MM, Izutsu KT. (1987): Iatrogenic causes of salivary gland dysfunction. *Journal of dental research*, 66 Spec No, S.680–688.
133. Slater RM, Pollard BJ, Doran BR. (1988): Prolonged neuromuscular blockade with vecuronium in renal failure. *Anaesthesia*, 43(3), S.250–251.
134. Smith W. (1993): Responses of laboratory animals to some injectable anaesthetics. *Laboratory animals*, 27(1), S.30–39.
135. Solt K, Cotten JF, Cimenser A, Wong KF, Chemali JJ, Brown EN, 2011. Methylphenidate actively induces emergence from general anesthesia. *Anesthesiology*, 115(4), S.791–803.
136. Srivastava A, Hunter JM, 2009. Reversal of neuromuscular block. *British journal of anaesthesia*, 103(1), S.115–129.
137. Staals LM, Snoeck MM, Driessen JJ, Flockton EA, Heeringa M, Hunter JM. (2008): Multicentre, parallel-group, comparative trial evaluating the efficacy and safety of sugammadex in patients with end-stage renal failure or normal renal function. *British journal of anaesthesia*, 101(4), S.492–497.
138. Staals LM, de Boer HD, Van Egmond J, Hope F, van de Pol F, Bom AH, Driessen JJ, Booi LH. (2011): Reversal of rocuronium-induced neuromuscular block by sugammadex is independent of renal perfusion in anesthetized cats. *Journal of Anesthesia*, 25(2), S.241–246.
139. Staehr-Rye AK, Grabitz SD, Theathasan T, Sasaki N, Meyer MJ, Gätke MR, Eikermann M. (2015): Effects of Residual Paralysis on Postoperative Pulmonary Function and Hospital Length of Stay, Abstract *Anesthesiology-ASA-Meeting* San Diego.
140. Steingrub JS, Lagu T, Rothberg MB, Nathanson BH, Raghunathan K, Lindenauer PK. (2014): Treatment with neuromuscular blocking agents and the risk of in-hospital mortality among mechanically ventilated patients with severe sepsis. *Critical care medicine*, 42(1), S.90–96.
141. Sunaga H, Malhotra JK, Yoon E, Savarese JJ, Heerdt PM. (2010): Cysteine reversal of the novel neuromuscular blocking drug CW002 in dogs: pharmacodynamics, acute cardiovascular effects, and preliminary toxicology. *Anesthesiology*, 112(4), S.900–909.
142. Sundman E, Witt H, Olsson R, Ekberg O, Kuylensstierna R, Eriksson LI. (2000): The incidence and mechanisms of pharyngeal and upper esophageal dysfunction in partially paralyzed humans: pharyngeal videoradiography and simultaneous manometry after atracurium. *Anesthesiology*, 92(4), S.977–984.

143. Takazawa T, Tomita Y, Yoshida N, Tomioka A, Horiuchi T, Nagata C, Orihara M, Yamada MH, Saito S. (2014): Three suspected cases of sugammadex-induced anaphylactic shock. *BMC anesthesiology*, 14, S.92.
144. Trager G, Michaud G, Deschamps S, Hemmerling TM. (2006): Comparison of phonomyography, kinemyography and mechanomyography for neuromuscular monitoring. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie*, 53(2), S.130–135.
145. Trinh T, Cappel JP, Geis PA, McCarty ML, Pilosof D, Zwerdling S. (1994): Uncomplexed cyclodextrin solutions for odor control on inanimate surfaces. States Patent 5714137.
146. Utting JE. (1992): The era of relaxant anaesthesia. *British journal of anaesthesia*, 69(6), S.551–553.
147. Ward S, Weatherley BC. (1986): Pharmacokinetics of Atracurium and its Metabolites. *British journal of anaesthesia*, 58(suppl 1), S.6S–10S.
148. Warmuth R, The Inner Phase of Molecular Container Compounds as a Novel Reaction Environment. (2000): *Journal of Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry*, 37, S.1-38.
149. Wilcox SR, Bittner EA, Elmer J, Seigel TA, Nguyen NT, Dhillon A, Eikermann M, Schmidt U. (2012): Neuromuscular blocking agent administration for emergent tracheal intubation is associated with decreased prevalence of procedure-related complications. *Critical care medicine*, 40(6), S.1808–1813.
150. Williams AR, Bailey M, Joye T, Burt N. (1999): Marked prolongation of the succinylcholine effect two hours after neostigmine reversal of neuromuscular blockade in a patient with chronic renal insufficiency. *Southern medical journal*, 92(1), S.77–79.
151. Wilson J, Collins AS, Rowan BO. (2012): Residual neuromuscular blockade in critical care. *Critical care nurse*, 32(3), S.e1–9.
152. Yang LPH, Keam SJ. (2009): Sugammadex: a review of its use in anaesthetic practice. *Drugs*, 69(7), S.919–942.
153. Zhang B, Hepner DL, Tran MH, Friedman M, Korn JR, Menzin J. (2009): Neuromuscular blockade, reversal agent use, and operating room time: retrospective analysis of US inpatient surgeries. *Current medical research and opinion*, 25(4), S.943–950.
154. Zwiers A, van den Heuve M, Smeets J, Rutherford S. (2012): Assessment of the Potential for Displacement Interactions with Sugammadex. *Clinical drug investigation*, 31(2), S.101–111.

Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
AST	Aspartat-Aminotransferase
cm	Zentimeter
EC50	Mittlere Effektive Konzentration
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and Drug Administration
H NMR	Wasserstoff-Nuclear-Magnetic-Resonance
I.E.	Internationale Einheit
INR	International Normalized Ratio
M	Mol
kg	Kilogramm
mg	Milligramm
ml	Milliliter
NaCl	Natriumchlorid
PACU	Post Anesthesia Care Unit
pH	Potentia hydrogenii
S.	Seite
SD	Standardabweichung
Sek.	Sekunden
TOF	train-of-four
vs.	Versus
z.B.	zum Beispiel

Abbildungen

<u>Abbildung 1:</u>	Stimulationsmuster bei Gabe von nicht-depolarisierenden Blockern der neuromuskulären Übertragung.
<u>Abbildung 2:</u>	Die unterschiedlichen Mechanismen zur Reversierung neuromuskulärer Blockaden.
<u>Abbildung 3:</u>	Die Metabolisierung von Gantacurium.
<u>Abbildung 4:</u>	Die trachealen Kanülierung.
<u>Abbildung 5:</u>	Der Ablauf der Gefäß –Kanülierung.
<u>Abbildung 6:</u>	Standardprotokoll zur Reversierung nicht-depolarisierender Blocker der neuromuskulären Übertragung.
<u>Abbildung 7:</u>	Protokoll zur Re-Relaxierung nach Calabadion 2-Reversierung.
<u>Abbildung 8:</u>	Wiedereinsetzen der Spontanatmung und Erholung der train-of-four (TOF) ratio nach Vecuroniumgabe.
<u>Abbildung 9:</u>	Wiedereinsetzen der Spontanatmung und Erholung der train-of-four (TOF) ratio nach Vecuroniumgabe unter Berücksichtigung des Molekulargewichts.
<u>Abbildung 10:</u>	Wiedereinsetzen der Spontanatmung und Erholung der train-of-four (TOF) ratio nach Rocuroniumgabe.
<u>Abbildung 11:</u>	Wiedereinsetzen der Spontanatmung und Erholung der train-of-four (TOF) ratio nach Cisatracuriumgabe.
<u>Abbildung 12:</u>	Twitch-Abfall und Aussetzen der Spontanatmung nach Succinylcholin induzierter neuromuskuläre Blockade.

Tabellen

<u>Tabelle 1:</u>	Drei durchgeführte ^1H -NMR-Spektroskopien.
<u>Tabelle 2:</u>	Die UV/Vis Spektroskopie.
<u>Tabelle 3:</u>	Die Dosierungen der einzelnen Medikamente.
<u>Tabelle 4:</u>	Die Auswirkungen von Calabadion auf die arteriellen Blutgase.

Danksagung

Die Danksagung ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.